Arbeit aus dem Laboratorium des Botanischen Gartens und Museums zu Berlin-Dahlem.

Serodiagnostische Verwandtschaftsforschungen innerhalb des Mez'schen Centrospermen-Astes

(Engler's Reihen von den Verticillatae bis zu den Ranales sowie den Primulales)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

bei der

Hohen Philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

vorgelegt von

BURGHARD HELWIG

Genehmigt von der Philosophischen Fakultät der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

Stuttgart 1927

E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung

(Erwin Nägele) G. m. b. H.

Tag der Promotion
14. Jan. 1927

Arbeit aus dem Laboratorium des Botanischen Gartens und Museums zu Berlin-Dahlem.

Serodiagnostische Verwandtschaftsforschungen innerhalb des Mez'schen Centrospermen-Astes

(Engler's Reihen von den Verticillatae bis zu den Ranales sowie den Primulales)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
bei der
Hohen Philosophischen Fakultät
der
Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

vorgelegt von

BURGHARD HELWIG

Genehmigt von der Philosophischen Fakultät der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

Stuttgart 1927
E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung
(Erwin Nägele) G. m. b. H.

Referenten:

PROF. DR. GILG.

PROF. DR. DIELS.

Diese Arbeit erschien in der Bibliotheca botanica Heft 94.

E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Erwin Nägele) G. m. b. H., Stuttgart.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Druck von Carl Grüninger Nachf. Ernst Klett, Stuttgart, Rotebühlstr. 77.

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547615_0072

Inhalt.

Seite

A. Einleitung . . . . . 45—47

B. Methodischer Teil . . . . . 47—48

a) Eiweißeinstellung . . . . . 47—48

b) Kontrollproben 48

C. Verwandtschaftsreaktionen . . . . . 49—67

a) Präzipitationsmethode nach Mez . . . . . 49—52

1. *Primula*-Immunserum . . . . . 49—50
2. *Urtica*- „ . . . . . 50—51
3. *Berberis*- „ . . . . . 51—52

b) Kapillarmethode . . . . . 52—64

1. *Cannabis*-Immunserum . . . . . 52—55
2. *Celtis*- „ . . . . . 55—56
3. *Corylus*- „ . . . . . 56—57
4. *Beta*- „ . . . . . 57—58
5. *Juglans*- „ . . . . . 59—60
6. *Amarantus*- „ . . . . . 60—61
7. *Fagus*- „ Nr. 1 . . . . . 61—62
8. *Fagus*- „ Nr. 2 63
9. *Statice*- „ . . . . . 63—64

c) Über die Konstanz der Reichweite der Reaktionen . . . . . 64—67

1. *Statice*-Antigen 64
2. *Fagus*- „ 65
3. *Amarantus*-Antigen 65
4. *Beta*- und *Celtis*-Antigen 65
5. *Corylus*-Antigen 65
6. *Primula*- „ 65
7. *Chenopodium*-Antigen 65
8. *Prunus*- „ . . . . . 65—66
9. *Linum*- „ 66
10. *Lens*- „ 66
11. *Rumex*- und *Piper*-Antigen 67
12. *Pinus*-Antigen 67
13. *Salix*- „ 67
14. *Hamamelis*-Antigen 67
15. *Saccharomyces*-Antigen 67

D. Über die Reziprozität der Reaktionen . . . . . 68—69

Seite

E. Zusammenfassender Vergleich zwischen der Präzipitationsmethode von Mez und der Kapillarmethode . . . . . 69—71

F. Über die Konglutination . . . . . 72—73

G. Schlußfolgerungen . . . . . 74—76

a) Eigenes Ergebnis 74

b) Literaturvergleich . . . . . 74—76

H. Literaturverzeichnis . . . . . 76—77

I. Tabellen über die Versuchsergebnisse . . . . . 78—83

A. Einleitung.

Stets ist es das Bestreben des Botanikers gewesen, die Fülle der Pflanzenformen voneinander abzugrenzen und wiederum Zusammengehöriges nebeneinander zu stellen. Die künstlichen Pflanzensysteme stellten als Grundlage für ihre Einteilung die Ähnlichkeit in äußerlichen Merkmalen auf. Sie verfolgten in der Hauptsache praktische Ziele, nämlich ein leichtes Bestimmen der Pflanzen.

Im Gegensatz dazu versuchen die natürlichen Systeme, die wirkliche Verwandtschaft der Pflanzen untereinander aufzudecken. Ihr gemeinsames Ziel ist die Aufstellung eines Stammbaumes des gesamten Pflanzenreiches. In der Methode unterscheiden sie sich mehr oder weniger voneinander. Bald legte man mehr Gewicht auf die morphologischen Gesichtspunkte, bald mehr auf den inneren Bau der Pflanzen, bald mehr auf Wachstumsverschiedenheiten. Zu den neueren Systemen, welche mit BRONGNIART's Einteilung im Jahre 1843 beginnen, gehört in erster Linie die Aufstellung der Reihen von ENGLER. Die Systematik der Pflanzen war hier auf Grund eingehender Forschungen auf dem Gebiete der Morphologie, Anatomie, Physiologie, Cytologie und Phytochemie gewonnen worden. Von der vorzugsweisen Bewertung eines einzelnen Merkmales war man hier abgekommen. Die Erfahrung hatte gelehrt, daß selbst sehr wesentliche Merkmale bei den durch sie charakterisierten Gruppen nicht immer konstant auftreten, sondern daß viele Merkmale in der einen Pflanzengruppe wesentlich, in der anderen unwesentlich sind. Viele von den Systematikern früher oder später sehr in den Vordergrund gestellte Merkmale hatten sich als nicht geeignet zur Charakterisierung großer Gemeinschaften herausgestellt. Wirklich genetische Verwandtschaft äußert sich nach dem Urteil von ENGLER (1) sowohl in der Übereinstimmung der Anlage der äußeren Gliederung, des anatomischen Baues der Vegetations- und Fortpflanzungsorgane und auch der chemischen Eigenschaften, wobei die Möglichkeit eines gemeinsamen Ursprunges auf demselben Gebiet der Erde gegeben sein muß. Vielartige Erwägungen tragen demnach bei dem ENGLER'schen System zur Erkenntnis der natürlichen Verwandtschaft bei. Dies bedingte allerdings, daß subjektives Ermessen dabei nie ganz auszuschalten war.

Neuerdings glaubt MEZ-Königsberg (2) dennoch ein einziges untrügliches Merkmal zur systematischen Bestimmung gefunden zu haben, das vollkommen objektive Ergebnisse zulasse und jede Subjektivität ausschließe. Er betrachtet das Eiweiß, woran alle wichtigen Lebensvorgänge der Pflanze, wie Aufbau, Ernährung und Fortpflanzung geknüpft sind, für so charakteristisch und spezifisch, daß er annimmt, seine Erkennung und Bestimmung gäbe es uns ohne weiteres in die Hand, den phylogenetischen Zusammenhang einer Pflanze mit anderen festzulegen. Er glaubt, auf Grund der Eiweißverwandtschaft einen Stammbaum des Pflanzenreiches aufbauen zu können. Als zuverlässigste Methode zur Bestimmung des Eiweißes verwendet er die Serodiagnostik, die in neuerer Zeit in der Medizin und Chemie mehr und mehr Eingang gefunden hat, da sie wie alle biologisch-chemischen Methoden äußerst feine Resultate liefert.

Die Serodiagnostik beschäftigt sich mit der Differenzierung von Eiweißkörpern. Obgleich deren Chemismus durch die Untersuchungen von Emil Fischer erst in großen Zügen geklärt ist, so ist es dennoch möglich, dieselben biologisch voneinander zu unterscheiden. Die Serodiagnostik wendete man zunächst nur für animalisches Eiweiß an; hier dient sie noch heute in allererster Linie als Identitätsnachweis für Blutsorten verschiedenen Ursprunges, speziell bei forensischen Fällen. Es ist das Verdienst Uhlenhuth's, sie hierfür nutzbar gemacht zu haben. Es war auch Uhlenhuth (3), der bei seinen zahlreichen Versuchen feststellte, daß ein Immunserum für Bluteiweiß auch das Bluteiweiß eines verwandten Tieres mitfällen kann. So reagierte mit Pferde-Immunserum auch Eselserum, mit Fuchs-Immunserum auch Hundeserum, mit Hammel-Immunserum auch Ziegen- und Rinderserum. Diese sog. Verwandtschaftsreaktionen wirkten zunächst störend bei den Identitätsnachweisen, da man z. B. Menschenblut nicht vom Blut menschenähnlicher Affen unterscheiden kann. Indessen hat Nuttall (4) diese Reaktionen herangezogen zum Ausbau des Stammbaumes des Tierreiches.

Für den Botaniker erhob sich darauf die schwerwiegende Frage: Können auch die Eiweißkörper der Pflanzen durch Immunsera von Tieren voneinander unterschieden werden und ergeben sich hier ebenfalls systematisch verwertbare Verwandtschaftsreaktionen? Ist es möglich, dasjenige Eiweiß zur Reaktion zu bringen, das allein für die genetischen Zusammenhänge maßgebend ist? Mez und seine Schüler glauben die Brauchbarkeit der Serodiagnostik für die Systematik der Pflanzen bewiesen zu haben. Sie erhielten Ergebnisse, die sich z. T. mit den Ansichten von Engler decken, z. T. aber auch völlig neue Gesichtspunkte ergeben. Das Gesamtresultat dieser Untersuchungen hat Mez in dem „Königsberger Stammbaum“ zusammengefaßt.

Trotz wiederholter Aufforderung von Mez sind derartige Untersuchungen bisher von anderer Seite kaum wiederholt worden. Als daher Herr Prof. Dr. E. Gilg in Gemeinschaft mit Herrn Privatdozenten Dr. P. N. Schürhoff sich entschlossen hatte, in breitem Rahmen eine Nachprüfung der Ergebnisse der Königsberger Schule vorzunehmen, fiel mir die Aufgabe zu, an Hand des Centrospermenastes die Versuche, welche von Malligson (5) in der Reihe der Untersuchungen von Mez zur Aufstellung seines Stammbaumes vorgenommen worden waren, nachzuprüfen, eventuell zu erweitern und zu vervollständigen.

An dieser Stelle möchte ich mir erlauben, Herrn Prof. Dr. E. Gilg für die gütige Überlassung des so wichtigen Themas sowie für die dauernde Überwachung und Anteilnahme an meiner Arbeit meinen aufrichtigen Dank auszusprechen; ebenso möchte ich Herrn Privatdozenten Dr. P. N. Schürhoff für seine wertvollen Ratschläge und seine ständige Hilfsbereitschaft danken.

Im Kaiser-Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und in der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes war es mir gestattet, eine genaue Kenntnis der serologischen Methoden zu gewinnen. Sowohl die Behandlung und Immunisierung der Kaninchen als auch die sterile Gewinnung der Immunsera und die Anstellung der Reaktionen wurden uns dort eingehend vorgeführt. Durch das liebenswürdige Entgegenkommen der Leiter dieser Institute blieben wir in ständiger Fühlung mit denselben, so daß wir unsere Erfahrungen stets bereichern konnten. Ich fühle mich daher Herrn Prof. Dr. Neuberg und Herrn Prof. Dr. Reither sowie Herrn Geheimrat Prof. Dr. Haendel und Herrn Oberregierungsrat Prof. Dr. Manteufel zu großem Dank verpflichtet.

Zum Centrospermenast zählt der Stammbaum von Mez die Monochlamydeae, wie sie Wettstein (6) umschreibt, ausgenommen Hamamelidales und Tricoccae, also Familien, die durch Apetalie und Syncarpie gekennzeichnet sind. Der Ast soll in sich eine Reduktionsreihe darstellen, wie das gesamte höhere Pflanzenreich. Ausgehend von den mit reichem Diagramm versehenen Berberidaceen vereinfache sich das Diagramm über die Phytolaccaceen, Nyctaginaceen, Chenopodiaceen und Amarantaceen bei den niederen Caryophyllaceen bis auf drei Blattkreise. Hier in der Nähe sollen dann als Nebenast die Familien der Plumbaginaceen, Primulaceen, Myrsinaceen, Theophrastaceen und Lentibulariaceen als Primulales abzweigen. Malligson glaubt durch Versetzung dieser Familien hierher die Pleiophylie der Sympetalen erkannt zu haben. Als Neuheit betrachtet er auch den vollkommenen Ausschluß der Cactaceen vom Centrospermenast, der durch stets negative Reaktionen bestätigt sei. Die weitere Reduktionsentwicklung reiche dann von den Polygonaceen über die Proteaceen, Santalaceen, Amentales zu den Betulaceen und Casuarinaceen. Letztere seien als primär apetal zu bezeichnen.

Malligson schreibt, diese Einteilung habe vor der von Engler den Vorteil, phylogenetisch zutreffend und sehr übersichtlich zu sein. Die Auflösung der Reihen in ihrer völligen Isolation sei ein nicht unerhebliches Ergebnis seiner Arbeit.

Vor Malligson hatten schon Gohlke (7) und Lange (8) mit Pflanzen aus den oben beschriebenen Familien reagiert. Ihre Reaktionen werde ich später im einzelnen besprechen. In großen Zügen glaubte Mez schon durch deren Resultate den Centrospermenast erkannt zu haben. Malligson hatte im Grunde genommen die Aufgabe, diese Untersuchungen zu erweitern, nachzuprüfen und zu vertiefen. Er fand, daß die positiven Resultate seiner Vorarbeiter sämtlich mit den seinen übereinstimmten. Dagegen fand er auch dort zuweilen Verwandtschaften, wo seine Vorgänger keine gefunden hatten. In einem Falle führt er dies auf taube Samen von *Salix* zurück. Allerdings ist dies nicht ganz einleuchtend, da aus der vorangegangenen Eiweißprobe dies doch ersichtlich sein mußte.

B. Methodischer Teil.

Jedenfalls ist es offenbar, daß Verschiedenheiten in den Reaktionen vorkommen können. Da jedoch jede einzelne Reaktion außerordentlich wichtig ist, soll sie doch zwischen verwandt und nicht verwandt entscheiden, so war es von vornherein mein Bestreben, die Methode so zu vervollkommnen, daß Irrtümer ausgeschlossen werden. Die Methode, nach der Mez und seine Schüler gearbeitet haben, ist von ihm eingehend niedergelegt (2), ebenso ist die Methode, nach der wir in Berlin später arbeiteten, von Gilg und Schürhoff (9) ausführlich geschildert. Bei der chronologischen Besprechung meiner Versuche werde ich eingehend auf diese Methoden zurückkommen; hier möchte ich nur hervorheben, daß zwei Gesichtspunkte mir ganz besonders wichtig erschienen.

a) Eiweißeinstellung.

Es ist dies einmal die Eiweißeinstellung der Antigene. An Hand der Eiweißtabelle, die angibt, wieviel Kubikzentimeter Esbachfällung ein Samenauszug aus 0,25 g Samen auf 20 ccm

Lösungsmittel liefert, ist leicht ersichtlich, eine wie verschiedene Menge Eiweiß ein Auszug 1 : 200 enthalten würde. Aus diesem Grunde habe ich stets nach Herstellung eines Antigens 1 : 100 geprüft, eine wie starke Trübung dasselbe nach dem Aufkochen mit Salpetersäure liefert; zugleich habe ich mir ein Normalserum in den Verdünnungen 1 : 200, 1 : 400, 1 : 800 und 1 : 1000 in Agglutinationsröhrchen angefertigt und in jedem Gläschen ebenfalls die Salpetersäureprobe vorgenommen. Die Röhrchen habe ich dann sofort zugeschmolzen zu Ampullen, und diese Ampullen zeigten mir dann nach dem Umschütteln die Normaltrübungen an. Ergab mein Samenauszug nach der Kochprobe ungefähr dieselbe Trübung wie die Normalserumverdünnung 1 : 400, so nahm ich ihn als 1 : 400 an, ergab er die der Verdünnung 1 : 1000, so nahm ich ihn als 1 : 1000 an. Diese Prüfungen machte ich bei jeder Antigenherstellung von neuem, da es leicht vorkommen kann, daß das lösliche Eiweiß des Samens im Laufe der Zeit nachläßt oder einmal etwas mehr, ein andermal etwas weniger Samenschalenbestandteile mit abgewogen werden.

b) Kontrollproben.

Außer auf die Einstellung des Eiweißgehaltes legte ich noch besonderes Gewicht auf die Kontrollproben. Daß das Antigen für sich und das Immunserum mit physiologischer Kochsalzlösung vollkommen klar bleiben müssen, ist ohne weiteres verständlich. Indessen genügt die Forderung von Mez betreffs der Normalserumprobe meines Erachtens nicht. Er läßt dieselbe nur in der Verdünnung 1 : 1000 des Antigens vornehmen. Da aber Verwandtschaftsreaktionen oft nur bis zur Verdünnung 1 : 200, 1 : 400, 1 : 800 reichen, so ist es immer noch nicht gesagt, ob das Normalserum nicht auch bis 1 : 200, 1 : 400, 1 : 800 mitreagiert, wenn es auch nicht 1 : 1000 erreicht. Man müßte demnach allen positiven Verwandtschaftsreaktionen unter 1 : 1000 große Bedenken entgegenbringen, wenn man nicht gleichzeitig auch die Normalserumreaktionen in den Verdünnungen 1 : 200, 1 : 400, 1 : 800 mitmacht. Aus diesem Grunde habe ich später stets zu jeder Antigenreaktion mit Immunserum eine Antigenreaktion mit Normalserum angesetzt. Hierbei zeigte sich dann auch die außerordentliche Wichtigkeit dieser Kontrollen. Bei Tiereiweißreaktionen, wo man überhaupt mit hochwertigeren Sera arbeiten kann, mögen diese Proben nicht so wichtig sein, bei den Pflanzeneiweißreaktionen jedoch, wo ein Titer 1 : 3200 schon als ganz gut bezeichnet werden kann, sind sie unbedingt erforderlich. Denn wenn schon ein Serum eines nicht immunisierten Kaninchens Ausfällungen in der Verdünnung bis 1 : 800 ergibt, wie wir es öfter beobachteten, muß eine positive Immunserumreaktion bis 1 : 800 in diesem Falle als negativ gelten.

Schließlich möchte ich noch auf folgende Erscheinung in bezug auf die Titer der Immunsera aufmerksam machen. Während Malligson in Königsberg bei seinen Impfungen fünfmal den erstaunlich hohen Titer 1 : 51 200 und keinen unter 1 : 12 800 erhielt, konnte ich bei denselben oder nahe verwandten Pflanzen als höchsten Titer 1 : 12 800 erzielen, meistens indessen nur den Titer 1 : 3200. Ich habe deshalb mehrmals denselben Samenauszug mehreren Kaninchen ein geimpft, doch konnte ich, wie gesagt, nie so hohe Titer erreichen.

C. Verwandtschaftsreaktionen.

a) nach Mez.

Ohne mehr im einzelnen vorauszuschicken, möchte ich jetzt der Reihe nach meine Versuche und Auswertungen anführen. Zunächst arbeitete ich genau nach den Vorschriften von Mez, und zwar wendete ich die Präzipitationsmethode an. Mein Pflanzenmaterial beschaffte ich mir zum größten Teil aus dem Botanischen Garten zu Dahlem und der Samenabteilung desselben. Einige Samen bekamen wir gütigst aus Buitenzorg. Bei der Prüfung der Samen auf Eiweiß zeigte es sich, daß mit physiologischer Kochsalzlösung nur ein Teil der Eiweißkörper in Lösung gegangen war. Dagegen konnte mit 0,1%iger Natronlauge, die fast sämtliche Eiweißkörper, wie Albumine, Globuline, Proteide löst, eine bedeutend konzentriertere Lösung erhalten werden. Neuerdings behauptet die Schule von Mez, daß die Kochsalzauszüge stets brauchbar wären, auch wenn sich das Eiweiß kaum oder nicht nachweisen ließe, es wäre dann latent vorhanden. Untersuchungen daraufhin im Vergleich mit Natronlaugeauszügen habe ich angestellt und werde darüber berichten.

1. Primula I. S.

Meine ersten Impfversuche nahm ich mit einem 0,1%igen NaOH-Auszug von *Primula officinalis*-Samen an einem Kaninchen im Kaiser-Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie in Dahlem vor. Ich impfte am ersten Tage 2 ccm intraperitoneal. Das *Primula*-Antigen schien im Tierkörper starke Reaktionen hervorzurufen, er zeigte Mattigkeit und Schwäche. Nach 7 Tagen und dann jeden vierten Tag impfte ich im ganzen sechszehnmal. Anfangs intraperitoneal steigend bis zu 8 ccm des übrigens sehr eiweißreichen Antigens, dann intravenös steigend bis zu 4,5 ccm. Es trat darauf eine Ohrentzündung (Ohrräude) auf, so daß ich wieder intraperitoneal meist 8 ccm injizierte. Durch Behandlung mit *Sulfur sublimatum* ging die Ohrentzündung bald zurück. Das Kaninchen wurde dann unter Aufsicht eines Herrn des Kaiser-Wilhelm-Institutes für experimentelle Therapie entblutet. Das gewonnene Immunserum zeigte den Titer 1 : 6400.

Bei den nun angestellten Serodiagnostikuntersuchungen machte ich zuerst den Fehler, zu lange mit der Ablesung derselben zu warten. Ich hatte morgens mit der Darstellung der Antigene begonnen und die Versuchsgläser mit Immunserum mittags in den Brutschrank gestellt. Da ich nicht für die Nacht vorbereitet war (die Ablesungen hätten um 1 Uhr nachts stattfinden müssen), konnte ich erst am nächsten Morgen, d. h. nach 18 Stunden, ablesen. Es zeigten sich fast in allen Gläsern Trübungen oder Niederschläge, die Kontrollprobe nicht ausgenommen. Ich wiederholte deshalb sämtliche Versuche und beobachtete die Versuchsgläser des öfteren im Brutschrank.

Die beigefügte Tabelle Nr. I gibt den Verlauf der Reaktionen an. Zunächst sind die häufigen Trübungen der Antigenkontrollen nach 12 Stunden auffällig. Nach der Vorschrift von Mez sind dadurch diese Versuche überhaupt nichtig; nun könnte man noch diejenigen Versuche werten, wo nach 6 Stunden das Antigen für sich klar blieb, aber eine positive Reaktion mit dem Immunserum auftrat. Dies war jedoch meist nur in den ganz niedrigen Verdünnungen der Fall, und diese sind deshalb in Frage gestellt, weil man nicht weiß, ob das Normalserum in diesen Fällen nicht auch

bis 1 : 200, 1 : 400, 1 : 800 mitreagiert hätte. Aus beiden Gründen, Eigentrübung der meisten Antigene nach 12 Stunden und Auslassung der niederen Normalserumkontrollen, welche allerdings von Mez nicht gefordert sind, sind fast die gesamten Reaktionen, die ich mit dem *Primula*-Immunserum anstellte, zweifelhaft. Sieht man von den niederen Normalserumkontrollen ab, so hätten eventuell positiv reagiert die Myrsinaceen und Lentibulariaceen, was Malligson ebenfalls fand. Bei den Plumbaginaceen tritt ein Fall auf, wie er mir und den mit mir arbeitenden Herren stets wiederkehrte. Trotz genauester Beobachtung ist es oft nicht möglich, nach 12 Stunden Brutschrank zu entscheiden, ob ein ganz feiner Niederschlag oder nur eine intensive Trübung vorhanden ist.

Es ist überhaupt nicht ganz erklärlich, weshalb Mez nur Niederschläge wertet, denn einmal werden in der Serodiagnostik fast immer schon die sehr bald, nach einigen Minuten, auftretenden Trübungen als positiv angesehen und andererseits wird wohl meist aus einer deutlichen Trübung ein allmählich sich zu Boden setzender Niederschlag, eine sog. Ausflockung, werden.

Uhlenhuth (3) schreibt bei der Untersuchung von Fleischeiweiß: „Tritt in Röhrchen 1 ebenso wie in Röhrchen 3 nach etwa 5 Minuten eine hauchartige, in der Regel am Boden des Röhrchens beginnende Trübung auf, die sich innerhalb weiterer 5 Minuten in eine wolkige umwandelt und nach spätestens 30 Minuten als Bodensatz absetzt, während die Lösungen in den übrigen Röhrchen völlig klar bleiben, so handelt es sich um Pferdefleisch. Später entstehende Trübungen dürfen als positiv nicht aufgefaßt werden."

Kann man Reaktionen von Kaninchen-Immunserum gegen animalisches und pflanzliches Eiweiß vielleicht auch nicht völlig einander gegenüberstellen, und handelt es sich hierbei vor allem um eine Identitätsreaktion, so leuchtet doch ein, daß eine Ablesung von Niederschlägen nach 12 Stunden Brutschrank zum mindesten sehr gewagt ist.

Bei dem so wichtigen Anschluß der Primulales an den Centrospermenast, den Malligson als einen der entscheidendsten Erfolge seiner Arbeit hinstellt, versagte die Methode bei mir vollkommen. Schon nach einer halben Stunde hatte sich das Normalserum in der Verdünnung 1 : 1000 getrübt, so daß die sofort stark auftretenden Trübungen in den Versuchsgläsern 1 : 100, 1 : 200, 1 : 400, die den Anschluß auch bei mir an die Polygonaceen dokumentiert hätten, hinfällig wurden. Ein Gleiches trat beim Anschlußversuch der Primulales an die Berberidaceen auf. Speziell der Anschluß der Primulaceen an die Aizoaceen fiel bei mir wie viele andere negativ aus.

Es folgt also, daß über den Anschluß der Primulales an irgend eine andere Pflanzengruppe serodiagnostisch auf Grund dieser Untersuchungen nichts ausgesagt werden kann.

2. Urtica dioica I. S.

Bei einem zweiten Kaninchen nahm ich Impfungen mit 0,1%igen NaOH-Auszügen von *Urtica dioica* vor. Nach zwei intraperitonealen und zehn intravenösen Impfungen mußte ich, da das Tier nach den letzten, schnell aufeinanderfolgenden Injektionen sehr schwach wurde, eine Entblutung vornehmen. Das Serum ergab bei der Titerstellung den Wert 1 : 12 800. Bei den Reaktionen beobachtete ich alle 2 Stunden.

Wie aus beiliegender Tabelle Nr. II hervorgeht, wären nach genauer Befolgung der Vorschrift von Mez fast sämtliche Versuche wieder unbrauchbar gewesen, da sich in den weitaus meisten

Fällen die Antigenkontrollen auch hier nach 12 Stunden von selbst getrübt hatten. Es hat den Anschein, als ob sich zwischen der 6.—10. Stunde größtenteils diese Opaleszenzen oder Trübungen bilden. Da außerdem auch hier noch die niederen Normalserumkontrollen fehlen, so möchte ich kein Resultat dieser ganzen Versuchsreihe wissenschaftlich exakt deuten. Besonders schwierig war mir bei diesen Ablesungen die genaue Entscheidung zwischen positiv und negativ. Es zeigten sich nach einigen Stunden fast in allen Reaktionsgläsern Trübungen, die so auf der Grenze zwischen intensiver Trübung und feinem Niederschlag waren, daß ich in diesen Fällen ein Fragezeichen angebracht habe. Nur ganz andeutungsweise könnte man vielleicht aus diesen Untersuchungen schließen, daß *Cannabis sativa* und *Celtis cordifolia* in der Nähe der Urticaceen stehen, etwas entfernter dann die Salicaceen, Fagaceen, Centrospermen, Piperaceen und Casuarinaceen.

Die Eigentrübungen der Antigene nach 12 Stunden Brutschrank und die oben geschilderte Unmöglichkeit, oft genau und objektiv abzulesen, sowie die Gefahr der zu unspezifischen Reaktionen nach 12 Stunden überhaupt, lassen gegen die Präzipitationsmethode, wie sie Mez anwendet, schwere Bedenken auftreten. Da die mit mir arbeitenden Herren unabhängig von mir bei anderen Untersuchungen zu gleichen Resultaten kamen, haben wir in Berlin von nun ab eine Methode angewendet, die einmal gestattet, nach höchstens einer halben Stunde, wie Uhlenhuth es fordert, die Ablesungen vorzunehmen, und zweitens den außerordentlichen Vorteil besitzt, genaue, exakte Ablesungen zu ermöglichen.

Die Methode ist angegeben in der Abhandlung von Gilg und Schürhoff: „Die Serodiagnostik in der botanischen Verwandtschaftsforschung“ (9). Hier sei nur kurz skizziert, daß das Immunserum in Kapillaren eingefüllt und mit Antigen überschichtet wird. Der sich bald darauf bildende weiße Ring an der Berührungszone beider Flüssigkeiten ist ein Merkmal, das demjenigen einer beginnenden Ausflockung nach 12 Stunden weit überlegen ist. Man könnte vielleicht annehmen, daß bei der Methode von Mez noch höhere Verdünnungen von Eiweiß innerhalb der langen Zeit eine Reaktion auslösen als bei unserer Kapillarmethode. Wie aus nachfolgender Tabellenübersicht Nr. III hervorgeht, wo viele Reaktionen sowohl nach der Methode von Mez wie auch nach unserer ausgeführt sind, ist dies jedoch nicht der Fall. Im Gegenteil, die Kapillarmethode reagiert oft noch in weiteren Verdünnungen.

Schließlich hat die Kapillarmethode, die zuerst von Hauser angewendet, darauf von Carnwath unter Uhlenhuth's Leitung (3) etwa so modifiziert wurde, wie wir sie gebrauchen, den großen Vorteil, eine allgemein anerkannte Methode zu sein, die den sonst üblichen Verfahren in keiner Weise nachsteht.

3. Berberis I. S.

Die Vergleichsreaktionen wurden mit einem Immunserum vorgenommen, das ein Kaninchen lieferte, welches mit 0,1%igen NaOH-Auszügen von *Berberis vulgaris* geimpft worden war. Die ersten dreimal wurden insgesamt 9 ccm intravenös geimpft, die nächsten Injektionen wurden intraperitoneal vorgenommen, und zwar fünfmal insgesamt 25 ccm. Auch dieses Kaninchen zeigte bei den letzten Impfungen starke Ermattung. Es wurde wie die meisten folgenden Tiere in der bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes entblutet. Das Serum zeigte den Titer 1 : 1600 an.

Diese Versuche zeigen bei der Gegenüberstellung mit voller Schärfe die Überlegenheit der Kapillarmethode an. Während bei fast sämtlichen Antigenen oder Normalserumkontrollen nach 12 Stunden eine Trübung vorhanden war, waren die Antigene bei der Kapillarmethode nach einer Stunde noch vollkommen klar. Die Normalserumkontrollen lehren uns, was schon angedeutet war, nämlich daß auch die nicht vorbehandelten Sera von Kaninchen imstande sind, bis zu einem gewissen Grade in Reagenzgläsern artfremde Eiweißkörper zu fällen. Es reichen diese Ausfällungen, die übrigens zahlreich in der Literatur (10) angeführt sind, meist bis zu Verdünnungen von 1 : 100 bis 1 : 800, manchmal sogar 1 : 1600. Dadurch, daß zu jeder Reaktion eine Parallelreaktion mit Normalserum in jeder einzelnen Verdünnung vorgenommen ist, lassen sich ohne weiteres scheinbar positive Reaktionen ausscheiden, bei denen das Normalserum ebenso weit reagierte.

Wie wichtig dies ist, zeigt z. B. die Reaktion von *Berberis* zu den Koniferen, denn scheinbar hat *Pinus*-Antigen mit *Berberis*-Immunserum bis 1 : 400 positiv reagiert, da aber das Normalserum fast genau so weit reagierte, ist die Reaktion nicht mehr als positiv anzusehen. Die einzigen zu wertenden Reaktionen nach der Methode von Mez sind die Titerstellungen mit *Berberis vulgaris*-NaCl-Antigen, die bis 3200 ± reicht, sowie die Reaktion von *Berberis* zu *Chenopodium album*-NaOH-Antigen. (NaOH-Antigen soll hier bedeuten, daß der Auszug mit 0,1%igem NaOH gewonnen und dann neutralisiert wurde.) Diese Reaktion zu *Chenopodium* hat auch Lange gefunden, sie war der Anlaß, den Centrospermenast von der Hauptachse des Stammbaumes in der Nähe der Berberidaceen abzweigen zu lassen. Vermutlich liegt hier in beiden Fällen ein ähnlicher Eiweißkörper vor, ob derselbe nun auf genetische Zusammenhänge schließen lassen kann, werden die weiteren Untersuchungen zeigen.

Betrachtet man die Ergebnisse nach der Kapillarmethode, so liefert auch hier die Titerstellung den Wert 1 : 1600. Die Reaktion mit *Primula* muß als negativ angesehen werden, da hier das Normalserum fast ebenso weit mitreagierte. Indessen kann die Reaktion zu *Fagus* und *Phytolacca* noch positiv gerechnet werden, denn das Normalserum reichte nur bis zu 1 : 200. Kaum positiv ist *Pinus cembra*-Antigen der Normalserumkontrolle wegen zu werten. Eine systematisch botanische Auswertung dieser Reaktionen zu *Chenopodium*, *Phytolacca* und *Fagus* möchte ich an dieser Stelle nicht vornehmen, ich komme später darauf zurück.

b) Kapillar-Methode.

1. Cannabis I. S.

Als nächstes Immunisationszentrum verwandte ich *Cannabis sativa*. Um wenigstens ein hochwertiges Serum von dieser Art zu bekommen, impfte ich 3 Kaninchen zur gleichen Zeit mit denselben Kochsalzauszügen aus den Samen. Dies sollte auch die Frage beantworten, ob nachher die drei verschiedenen *Cannabis*-Immunsera gleiche Verwandtschaften aufdecken würden oder ob auch Unterschiede, hervorgerufen durch Höhe des Titers oder Individualität des Tieres, sich aufweisen würden. Kaninchen Nr. 1 und Nr. 2 impfte ich je sechsmal intravenös und Kaninchen Nr. 3 fünfmal intravenös mit durchschnittlichen Mengen von 5 ccm Antigen. Dann schritt ich zur ersten Probeblutentnahme. Hierbei mußte ich leider die Erfahrung machen, daß die Tiere kaum immun geworden waren. Sie wiesen sämtlich kaum einen Titer auf. Ich entschloß mich nun,

mittels 0,1%igen NaOH-Auszügen weiter zu impfen. Bekanntlich löst eine Neutralsalzlösung wie die Kochsalzlösung nur einen Teil der Eiweißkörper, nämlich Albumine und Globuline, während durch schwache Laugen auch noch die Proteide in Lösung gehen. Nach einer Analyse (11) enthält der Samen von *Cannabis sativa:*

Fettes Öl	19,1 %
Harz	1,6 „
Zucker	1,6 „
Gummiges Extrakt	9,0 „
Lösliches Eiweiß	24,7 „
Faserbestandteile	5,0 „
Gehäuse	38,3 „
Verlust	0,7 „

Man sieht daraus also, daß reichlich Eiweiß vorhanden ist. Kaninchen Nr. 1 und Nr. 2 impfte ich mit den alkalischen Auszügen nach der Probeblutentnahme noch achtmal meist intraperitoneal mit je 10 ccm, während ich Kaninchen Nr. 3 noch zwölfmal impfte. Als ich nach der Entblutung zu der Titerstellung übergehen wollte, zeigte sich eine sehr störende Erscheinung. Ich versuchte einen 0,1%igen NaOH-Auszug von *Canabis sativa* zu neutralisieren, aber stets, wenn der genaue Neutralisationspunkt erreicht war, trübte sich das Antigen stark, so daß eine Titerstellung auf diese Weise unmöglich war. Schließlich mußte ich mich so behelfen, daß ich das Antigen nur beinahe neutralisierte, so daß es noch etwas alkalisch blieb, dann fand die Trübung nicht statt. Derartige Erscheinungen wiederholten sich später noch bei einigen anderen Antigenen, aber nie wieder so stark wie bei *Cannabis*. Worauf diese Erscheinung zurückzuführen ist, kann ich nicht unbedingt sagen, da sie nicht allgemein auftritt, vielleicht aber ist es das Eiweiß der Proteide, welches in neutralen Lösungen leicht ausfällt.

Kaninchen Nr. 1 zeigte so den Titer 1 : 3200, Kaninchen Nr. 2 den 1 : 800, Kaninchen Nr. 3 den 1 : 6400. Hieraus ersieht man, was schon vielfach beobachtet wurde, daß Kaninchen, die zu gleicher Zeit mit denselben Stoffen gleich oft vorbehandelt wurden, dennoch ganz verschieden immun wurden. Kaninchen Nr. 2 reagierte so wenig auf die Injektionen, daß es für diagnostische Reaktionen nicht zu gebrauchen war, während das Resultat bei Kaninchen Nr. 1 ganz zufriedenstellend ist. Schließlich möchte ich aus dem höheren Titer von Kaninchen Nr. 3 entnehmen, daß öfteres Impfen entgegen anderen Meinungen zuweilen noch eine höhere Immunität liefert. Dies fand ich bei einigen anderen Versuchen ebenfalls bestätigt. Allzu oftes Impfen allerdings mag trotzdem mit einem Rückgang des Titers verbunden sein.

Im folgenden Teil möchte ich die Reaktionen der *Cannabis*-Immunsera Nr. 1 und Nr. 3 zu verschiedensten Antigenen bewerten. Die Reaktionen sind zunächst nur nach der Kapillarmethode vorgenommen worden; wie die beiliegende Liste Nr. IV und Nr. V zeigt, reagieren meist die Normalsera weiter als bis zu 1 : 200, selten dagegen über 1 : 1000. Die Versuche zeigen uns ganz eindeutig, wie wichtig diese Normalserumkontrollen sind. Z. B. fand bei dem Antigen von *Ribes* eine positive Reaktion mit *Cannabis*-Immunserum Nr. 3 bis zur Verdünnung 1 : 400 statt, nach Mez müßte also der Versuch als positiv angesehen werden, denn die Kontrolle 1 : 1000 fiel negativ aus; da jedoch in unserem Falle auch das Normalserum bis 1 : 400 mitreagiert, ist natürlich die Reaktion mit *Ribes* negativ zu bewerten. Alsdann ersieht man aus den Tabellen, daß das hochwertigere

Immunserum von Kaninchen Nr. 3 meist weiter reagiert als das von Kaninchen Nr. 1. Zu erwähnen wäre dann noch, daß zuweilen eine Reaktion wahrscheinlich nur deswegen negativ ausfiel, weil die Verdünnung dieses Antigens einer Eiweiß-Normalkonzentration 1 : 1000 und darüber entsprach und so die niederen Verdünnungen fehlen mußten. Aus diesem Grunde ist es unter Umständen zu erklären, daß NaCl- und NaOH-Auszüge hier gar nicht und dort positiv ausfielen, wie bei *Urtica dioica*. Direkt widersprechen sich aber die Resultate der Kochsalzauszüge und der alkalischen Auszüge bei *Berberis vulgaris* und *Primula officinales*. Bei den weniger Eiweiß (weniger verschiedenes Eiweiß) enthaltenden Neutralsalzlösungen reagiert das Normalserum ebenso weit wie das Immunserum, während bei den NaOH-Auszügen, wo noch die Proteide aus dem Sameneiweiß hinzukommen, die Reaktionen mit Immunserum weiter reichen als das Normalserum. Mez dagegen behauptet, daß NaCl- und NaOH-Auszüge völlig gleichmäßig anzuwenden seien.

Ganz einwandfrei mit *Cannabis sativa*-Immunserum Nr. 3 haben nun folgende Antigene positiv reagiert:

Corylus Avellana	*Hamamelis virginiana*
Prunus Amygdalus	*Vicia Faba*
Aesculus Hippocastanum	*Statice sinuata*

In all diesen Fällen reagiert das Normalserum lange nicht so weit wie das Immunserum, die Antigenkontrollen waren vollkommen klar geblieben und ebenso Immunserum mit physiologischer Kochsalzlösung. Ein Irrtum ist bei diesen Reaktionen ausgeschlossen. Diejenigen Ergebnisse, bei denen das Immunserum nur um eine Verdünnung weiter reagierte, sind bei der obigen Aufstellung nicht mitgezählt. Man muß sich nun fragen: inwiefern sind diese Pflanzen nach allen früheren botanischen Untersuchungen verwandt. Doch eigentlich nur insoweit, als sie zu den Dicotyledoneen gehören. Ihr äußerer Habitus, ihre Morphologie, ihre Anatomie, ihre Cytologie weisen starke Differenzen auf. Man könnte vielleicht einwerfen, daß Kaninchen Nr. 3 ein heterologes Serum geliefert hätte; dem aber widerspricht, daß auch bei Kaninchen Nr. 1 so außerordentlich fernstehende Familien wie die Moraceen und Sapindaceen miteinander reagierten und daß sich bei allen ferneren Immunserumreaktionen solche Erscheinungen zeigten. Eigentümlich ist dann, daß so nahestehende Familien wie die Urticaceen so schwach positiv reagierten und die Ulmaceen sogar negativ.

Als weniger stark positiv sind zu erwähnen:

Fagus silvatica	*Celastrus punctata*
Urtica dioica	*Juglans regia*
Melandryum noctiflorum	*Berberis vulgaris*
Fagopyrum esculentum	*Mirabilis jalapa*
Hedera helix	

Mit *Juglans regia* erhielt Gohlke, der ebenfalls früher ein *Cannabis sativa*-Immunserum hergestellt hatte, auch positive Reaktionen, ferner mit den Moraceen, Betulaceen und Cannabaceen. Merkwürdigerweise erhielt er auch negative Ausfälle mit den Urticaceen, Ulmaceen und Fagaceen, ferner entgegen meinen Ergebnissen mit *Corylus Avellana*, *Mirabilis jalapa* und *Hamamelis*. Seine außerordentlich vielen anderen negativen Resultate kann ich an dieser Stelle nicht aufzählen. Malligson erklärt die ungewöhnlich wenigen positiven Reaktionen Gohlke's mit dessen geringem

Titer, der ihm nicht bekannt sei, während aus Gohlke's Präzipitationstabelle der Titer deutlich als 1 : 12 800 abzulesen ist.

Negativ oder kaum positiv fielen bei mir dann noch aus:

Tropaeolum majus
Oxalis valdiviana
Rheum undulatum
Aristolochia fimbriata.

Somit läßt sich aus all diesen Resultaten wohl kaum eine brauchbare systematische Auswertung erzielen.

2. Celtis cordifolia I. S.

Ein neues Immunisationszentrum stellte ich mit Samen von *Celtis cordifolia* dar. Dieselben ergaben mit 0,1%igen NaOH-Auszügen genügend Eiweiß in Lösung. Ich impfte zunächst dreimal intravenös je 3 ccm und dann viermal intraperitoneal je 10 ccm und schritt darauf zur Probeblutentnahme, indessen ergab die Titerstellung noch keine genügende Immunisation, so daß ich noch 4 Injektionen intraperitoneal mit 10 ccm gab. Aber auch jetzt hatte das Immunserum nach der Entblutung noch einen verhältnismäßig niedrigen Titer, nämlich 1 : 1600.

Die Reaktionen mit dem *Celtis cordifolia*-Immunserum habe ich in Tabelle VI aufgezeichnet. Auch hier würden wieder zahlreiche Antigene mit dem Immunserum scheinbar positiv bis 1 : 200, 1 : 400, 1 : 800 reagiert haben, hätte man die Normalserumkontrollen in den gleichen Verdünnungen weggelassen, z. B. bei:

Beta vulgaris
Cannabis sativa
Silene tatarica
Fagopyrum esculentum
Celastrus punctata
Rheum undulatum
Melandryum noctiflorum
Pinus cembra.

Ganz unzweideutig sind folgende Reaktionen positiv zu bewerten:

Corylus Avellana
Prunus Amygdalus
Reseda alba
Hamamelis virginiana
Statice sinuata.

Schwächer folgen dann positiv:

Cornus mas
Aesculus Hippocastanum
Oxalis valdiviana
Berberis vulgaris
Phytolacca decandra
Mirabilis jalapa
Vicia Faba
Lens esculenta
Myrtus communis.

Als kaum noch positiv wären anzuführen, da das Normalserum nur eine Kleinigkeit geringer reagierte:

Juglans regia
Hedera helix
Aristolochia fimbriata
Primula officinalis
Linum usitatissimum
Evonymus europaea
Rosa canina
Rumex alpinus
Piper album
Pisum sativum
Salix pentandra
Callistemon brachyandrus
Urtica dioica.

Von den stark positiven ist uns die mit *Corylus Avellana* verständlich, dagegen diejenigen mit den Rosaceen, Hamamelidaceen und Resedaceen nicht, zum mindesten können diese Pflanzen nicht nahe verwandt mit den Ulmaceen sein. Mit den Resedaceen hat übrigens auch Gohlke bei Präzipitationsversuchen positive Reaktionen durch *Cucurbita pepo*-Immunserum erhalten, wo genetische Zusammenhänge nicht vorliegen können. Ferner hat derselbe mit *Juglans regia*-Immunserum zu den Hamamelidaceen eine positive Reaktion erhalten, die überrascht. *Hamamelis* also reagierte mit Ulmaceen und Cucurbitaceen, *Reseda alba* mit Ulmaceen und Juglandaceen. Diese Ergebnisse müssen über die Brauchbarkeit der Serodiagnostik für Pflanzenverwandtschaftsforschungen stutzig machen. Daß *Statice sinuata* positiven Ausfall ergab, erscheint nicht sehr zutreffend, würde aber mit dem Stammbaum von Mez übereinstimmen. Auf die zahlreichen schwächer positiven Reaktionen will ich hier nicht näher eingehen, teilweise sind es wirklich nah verwandte Pflanzen, teilweise aber auch gar nicht verwandte. Von den kaum positiven und negativen Resultaten sind unbedingt auffällig diejenigen mit *Urtica dioica* und *Cannabis sativa*, die sehr stark positiv hätten ausfallen müssen.

3. Corylus Avellana I. S.

Um weitere Untersuchungen vorzunehmen, stellte ich ein Immunserum von *Corylus Avellana* dar. Da bei einer Probe hier der NaOH-Auszug viermal so viel Eiweiß gelöst enthielt als der Kochsalzauszug, impfte ich mit 0,1%igen NaOH-Antigenen. Ich gab insgesamt vier intraperitoneale und drei intravenöse Injektionen. Bei einer Probeblutentnahme zeigte das Immunserum den Titer 1 : 6400, so daß ich zur Entblutung schritt.

Von *Corylus Avellana* sind in Königsberg schon zwei Immunsera gewonnen worden. Gohlke erhielt das erste, das nach seiner Präcipitationstabelle den Titer 1 : 12 800 gehabt haben muß, während Malligson seines als sehr hochwertig angibt, nämlich mit einem Titer 1 : 51 200. Es ist hierbei zu berücksichtigen, daß mein Titer ebenfalls höher sein würde, etwa ähnlich dem von Gohlke, wenn ich die Eiweißeinstellung nicht vorgenommen hätte. Die beiden Forscher gewannen positive Anschlüsse an die Juglandaceen, Fagaceen, Moraceen, Cannabaceen, Ulmaceen und Salicaceen. Die beiden letzteren allerdings waren bei Gohlke negativ, was Malligson bei *Salix*-Samen damit zu erklären sucht, daß bei einer Nachprüfung der betreffenden Samen dieselben sich als taub herausstellten. Es ist dies nicht ganz verständlich, da Gohlke doch sicher vorher Eiweißproben vorgenommen hatte. Bei den Ulmaceen nimmt er an, daß sein höherer Titer diese fernerstehende Familie noch erreicht habe.

Im großen und ganzen erhielt ich bei denselben Pflanzen, die ja auch nach früheren botanischen Forschungen mit den Betulaceen alle etwas verwandt sind, ebenfalls gleiche Reaktionen. Nur *Cannabis sativa* muß ich negativ werten, da das Normalserum hier eben so weit mitreagierte wie das Immunserum. Alsdann war auch die Reaktion zu *Juglans regia* bei mir wesentlich schwächer. Vor allem jedoch erhielt ich bei mehreren anderen Pflanzen noch sehr starke Reaktionen, die bei den anderen erwähnten Arbeiten negativ ausfielen. Malligson betont selber, daß ihm ähnliche Fälle bei der Nachprüfung der Resultate seiner Vorgänger Gohlke und Lange aufgefallen sind. Er schreibt: „Man wird demnach sich in Zukunft auf positive Reaktionen zuversichtlicher verlassen können als auf negative und bei letzteren manche Zufälligkeiten berücksichtigen müssen, welche oft nicht auf den ersten Blick übersehen werden können."

So erhielt ich mit *Linum usitatissimum* einen sehr starken Anschluß an die Betulaceen und ebenso mit *Prunus Amygdalus*; letzteres Antigen reagierte ja auch schon mit dem vorigen Immunserum sehr stark positiv. Man muß sich fragen, ob zwischen diesen Pflanzen nahe genetische Zusammenhänge bestehen können. Jedenfalls kann dies die bisherige botanische Forschung wohl nicht bestätigen.

Weniger stark positiv reagierte bei mir dann noch:

Berberis vulgaris	*Evonymus europaea*
Myrtus communis	*Statice sinuata*
Aquilegia vulgaris	*Lychnis coronaria.*

Hierbei würden selbst aus dem Königsberger Stammbaum *Myrtus*, *Aquilegia* und *Evonymus* herausfallen. Kaum noch positiv und direkt negativ fielen aus:

Juglans regia	*Rheum undulatum*
Celastrus punctata	*Aristo ochia fimbriata*
Aesculus Hippocastanum	*Phytolacca decandra*
Primula officinalis	*Cannabis sativa*
Reseda alba	*Beta vulgaris*
Urtica dioica	*Fagopyrum esculentum*
Hamamelis virginiana	*Opuntia*
Tropaeolum majus	*Lens esculenta.*
Oxalis valdiviana	

Gar nicht reagierte *Casuarina stricta*, welche Reaktion bei Malligson und Gohlke zweifelhaft war. Wiederum wäre es auch hier verfehlt, phylogenetische Erörterungen an die Ergebnisse anzuschließen.

4. Beta vulgaris I. S.

Mit *Beta vulgaris* gelang es mir, ein weiteres Immunserum herzustellen. Auch hier impfte ich mit 0,1%igen NaOH-Auszügen, zunächst fünfmal intravenös und einmal intraperitoneal jedesmal ca. 3,5 ccm. Bei einer darauffolgenden Probeblutentnahme hatte ich erst einen Titer 1 : 800 erreicht, ich injizierte deshalb noch viermal intraperitoneal, bis ich zur Probeblutentnahme vorging. Bei den letzten Impfungen wurde das Kaninchen merklich schwach. Die endgültige Feststellung des Titers machte hier wieder Schwierigkeiten. Einmal trübte sich das alkalische Antigen sehr schnell und andererseits wurde es bei genauer Neutralisation durch Essigsäure ebenfalls etwas trübe, so daß es verschiedentlich filtriert werden mußte. Der Titer stellte sich etwa auf 1 : 3200 ±. Ich betone: etwa, da durch die Essigsäure Eiweißkörper ausgefällt und später abfiltriert werden mußten, die sonst noch mitreagiert hätten.

In beiliegender Tabelle Nr. VIII habe ich meine Reaktionen aufgezeichnet. Schon Lange hatte im Rahmen seiner Arbeit eine zu den Chenopodiaceen gehörige Pflanze, nämlich *Chenopodium album*, als Immunisationszentrum verwendet. Sein Serum hatte den Titer 1 : 2560. Wie ersichtlich, ergaben bei mir eine stark positive Reaktion:

Corylus Avellana	*Linum usitatissimum*
Prunus Amygdalus	*Myrtus communis.*

Wieder muß man sich sagen, daß gerade diese ganz eindeutigen Reaktionen keine Verwandtschaft zu den Chenopodiaceen anzeigen können, sondern daß dieser Ausfall der Reaktionen wohl auf

verwandte Eiweißkörper schließen lassen kann, aber nicht auf enge genetische Zusammenhänge.

Gut positiv reagierten alsdann:

Melandryum album — *Reseda alba.*
Lychnis coronaria

Kaum noch positiv reagierten:

Amarantus caudatus — *Hamamelis virginiana*
Salix pentandra — *Phytolacca americana.*

Diese Anschlüsse an die Chenopodiaceen sind systematisch größtenteils verständlich und meist auch von Lange gefunden worden mit Ausnahme von *Reseda* und *Hamamelis*, mit denen er nicht reagierte. Ferner erhielt Lange noch positive Ausfälle mit *Juglans regia* und *Mesembrianthemum crystallinum*, welche bei mir negativ reagierten, sowie ganz schwache mit Basellaceen, Portulacaceen und Berberidaceen, mit welchen ich nicht arbeitete.

Negativ waren bei mir:

Juglans regia
Fagus silvatica
Cannabis sativa
Aristolochia fimbriata
Fagopyrum esculentum
Sta ice sinuata
Silene gallica
Opuntia
Mirabilis jalapa
Ribes grossularia
Vicia Faba
Lens esculenta
Primula officinalis
Callistemon brachyandrus
Rumex alpinus
Mesembrianthemum crystallinum
Pinus cembra
Pisum sativum
Aquilegia vulgaris
Syringa vulgaris
Atriplex nitens.

Weder Immunserum noch Normalserum reagierten bei:

Casuarina stricta — *Saccharomyces cerevisiae*
Foeniculum vulgare — *Chenopodium album.*

Wollte man aus diesen zahlreichen Ergebnissen heraus nun den Chenopodiaceen eine bestimmte Stelle im Stammbaum des Pflanzenreiches anweisen, so sprächen viele Reaktionen für die Verwandtschaft mit den Familien der Centrospermenreihe, wie die Reaktion mit *Melandryum*, *Amarantus*, *Lychnis*, *Mesembrianthemum*, *Mirabilis*, *Phytolacca*, *Portulaca*. Wie steht es aber mit derjenigen zu *Juglans*, die Lange gefunden, zu *Corylus*, zu *Prunus*, zu *Linum*, zu *Myrtus*, zu *Hamamelis*? Sie liegen in weiterem Umkreis um die Chenopodiaceen herum; aber ohne eine Anlehnung an ein System, das die Merkmale der Anatomie, Morphologie, Physiologie usw. berücksichtigt, wüßte man nicht, ob man die Centrospermengruppe an die Amentales, Rosales oder Geraniales anschließen sollte. Unaufgeklärt bleibt auch, weshalb *Fagopyrum* und *Rumex* einen negativen Ausfall ergaben und nicht zuletzt die Stärke der Reaktionen gerade zu den genetisch ferner stehenden Pflanzen. Eindeutig jedenfalls gibt die Serodiagnostik die Stellung der Chenopodiaceen nicht an.

5. Juglans regia I. S.

Das nächste Kaninchen impfte ich mit Auszügen aus Samen von *Juglans regia*. Das 0,1%ige NaOH-Antigen war sehr eiweißreich, so daß ich nach 10 Injektionen hoffen konnte, einen guten Titer erzielt zu haben. Bei der Titerstellung ergab sich der Wert 1 : 3200. In Königsberg hatten früher sowohl Gohlke wie Malligson ein *Juglans*-Immunserum hergestellt. Dasjenige von Malligson hatte wieder den sehr hohen Titer 1 : 51 200, während Gohlke seinen Tabellen nach den Titer 1 : 12 800 erreicht hatte (merkwürdigerweise schreibt Malligson, der Titer des Immunserums von Gohlke sei ihm unbekannt, er müsse aber sehr niedrig gewesen sein).

In der beigelegten Tabelle Nr. IX sind meine Reaktionen verzeichnet. Danach haben stark positiv reagiert:

Fagus silvatica
Corylus Avellana
Linum usitatissimum
Lens esculenta
Magnolia Kobus.

Die Fagales haben auch bei Malligson und Gohlke positiv reagiert, während sie mit den Linaceen und Magnoliaceen keinen Ausschlag erhielten; mit den Papilionaten haben sie keine Untersuchungen vorgenommen. Positiven Anschluß ergaben dann bei mir noch:

Melandryum noctiflorum
Reseda alba
Myrtus communis
Statice sinuata
Rheum undulatum
Celtis cordifolia
Cannabis sativa.

Melandryum war bei Malligson ebenfalls positiv, dagegen bei Gohlke negativ, die Polygonaceen und Ulmaceen hatten bei beiden Forschern ein gleiches Resultat wie bei mir, mit den Myrtaceen und Resedaceen haben sie nicht reagiert. Bei *Statice limonum* erhielt Malligson einen positiven Ausfall. Die *Cannabis*-Reaktion von Gohlke deckt sich mit meiner.

Kaum noch positiv zu nennen waren, da das Normalserum fast ganz mitreagierte:

Berberis vulgaris
Evonymus europaea
Piper album
Rumex alpinus
Rumex salicifolius
Rhus silvestris
Salix pentandra.

Vollkommen negativ zu werten sind infolge der Normalserumreaktion:

Phytolacca americana
Anamirta cocculus
Sinapis alba
Aristolochia fimbriata
Pinus cembra
Pisum sativum
Amarantus caudatus
Aquilegia vulgaris
Mesembrianthemum crystallinum
Opuntia
Mirabilis jalapa
Ribes grossularia
Prunus Amygdalus
Sapindus Saponaria
Vicia Faba
Hamamelis virginiana
Primula officinalis
Syringa chinensis
Rosa canina

Gar keinen Anschluß ergaben:

Urtica dioica
Atriplex nitens
Chenopodium album
Casuarina stricta
Silene tatarica.

Vergleiche ich diese Ergebnisse mit denen meiner Vorgänger, so treten vielfach Gleichheiten auf, oft aber zeigen sich auch Widersprüche. Während die Piperaceen bei mir kaum noch positiv zu nennen waren, waren sie bei den beiden Königsberger Autoren gut positiv. *Amarantus* und *Mesembrianthemum* waren bei Gohlke negativ, bei Malligson positiv und bei mir wieder negativ. Ähnlich steht es mit *Phytolacca*, das bei Malligson positiv, bei mir kaum noch positiv und bei Gohlke negativ ausfiel. Noch verworrener wird die Lage bei den Salicaceen. Malligson hatte positive Resultate, bei mir waren sie kaum noch positiv, da das Normalserum fast ganz mitreagierte, und Gohlke schließlich hatte bei der Konglutination einen vollkommen negativen Ausfall, und bei der Präzipitation mit *Salix alba* einen positiven. Die Resultate von Gohlke müssen uns stutzig machen, denn eigentlich sollten doch beide Methoden der in Königsberg arbeitenden Untersucher dasselbe Resultat ergeben.

Es würde zu weit führen, jede einzelne Reaktion zu vergleichen. Auffällig sind an und für sich schon die vielfach entgegengesetzten Resultate zwischen Gohlke und Malligson. Letzterer erklärt dies damit, daß Gohlke meist dort intensive Trübungen gehabt habe, was ja nach der Anleitung von Mez immer noch einen negativen Ausfall bezeichnet, während er vermöge seines hochwertigeren Serums bei denselben Pflanzen positive Anschlüsse, also eine Ausflockung bekommen habe. Es tritt uns hier wieder die Erscheinung entgegen, daß es unbedingt Zweifelsfälle geben muß, wenn eine Reaktion an der Grenze von starker Trübung und geringer Ausflockung vorgenommen wird. Uns jedenfalls war es bei der Ablesung nach 12 Stunden aus diesem Grunde oft nicht möglich, zweifelsfrei zu entscheiden, ob positiv oder negativ.

Eine interessante Erscheinung sei hier erwähnt: zwei Arten derselben Gattung *Rumex* reagierten vollkommen gleich, zeigten keine Unterschiede bei dem Ausfall der Reaktionen. Schließlich möchte ich noch anführen, daß Gohlke von *Juglans* aus einen positiven Ausschlag bis zu *Hamamelis* bekam, den ich nicht erhielt. Es erscheint mir nicht möglich, auf Grund dieser zahlreichen widersprechenden Ergebnisse eine wissenschaftlich befriedigende Stellung der Juglandaceen im System anzugeben.

6. Amarantus caudatus I. S.

Von den Amarantaceen gelang es mir mit Hilfe von Samen von *Amarantus caudatus* ein Immunserum zu erhalten. Ich impfte zunächst viermal intravenös und dann sechsmal je 10 ccm intraperitoneal. Da ich stets bedeutend bessere Erfolge mit alkalischen Extraktionen gehabt hatte, arbeitete ich auch hier mit 0,1%igen NaOH-Auszügen. Nach der Entblutung zeigte das Serum den Titer 1 : 3200.

Weder Gohlke noch Malligson haben ein *Amarantus*-Immunserum hergestellt, dagegen haben sie mit anderen Immunsera zu *Amarantus*-Antigen hinreagiert. Ihre positiven Reaktionen habe ich größtenteils reziprok bestätigt gefunden, so die Reaktion mit *Mirabilis jalapa, Silene gallica, Juglans regia, Fagus silvatica, Chenopodium album.* Dagegen erhielt ich aber außerdem die aus Tabelle Nr. X ersichtlichen, stark positiven Anschlüsse.

Prunus Amygdalus	*Aquilegia vulgaris*
Linum usitatissimum	*Opuntia.*

Die ersten beiden Pflanzen hatten auch mit meinen anderen Immunsera positive Reaktionen ergeben, müssen also Eiweißkörper enthalten, die mit sehr vielen Pflanzen-Immunsera, die einigermaßen hochwertig sind, Reaktionen auslösen. Überraschend ist das Ergebnis mit *Aquilegia*, das ähnlich ist, wie dasjenige, welches Lange von *Chenopodium* zu *Berberis* erhielt. Ganz auffallend erscheint der positive Ausfall bei *Opuntia*-Antigen, das mit keinem anderen Immunserum bisher reagiert hatte.

Von der Fülle der übrigen positiven Reaktionen:

Corylus Avellana	*Mesembrianthemum crystallinum*
Fagus silvatica	*Myrtus communis*
Cannabis sativa	*Pisum sativum*
Sapindus Saponaria	*Celtis cordifolia*
Berberis vulgaris	*Statice sinuata*
Lychnis coronaria	*Chenopodium album*
Reseda alba	*Rosa canina*
Callistemon brachyandrus	*Melandryum noctiflorum*
Rumex salicifolius	*Silene tatarica*
Salix pentandra	

würden viele nach dem Stande der bisherigen botanischen Forschung mit den Amarantaceen näher oder ferner verwandt sein, man könnte danach vielleicht die Brauchbarkeit der Serologie für die Pflanzenverwandtschaftsverhältnisse annehmen. Leider stehen aber diesen Anschlüssen auch andere gegenüber, die letzteres vollkommen in Frage stellen. So die Reaktionen mit den Sapindaceen, Resedaceen, Rosaceen und Myrtaceen.

Die negativen Reaktionen:

Aristolochia fimbriata	*Lens esculenta*
Fagopyrum esculentum	*Syringa vulgaris*
Impatiens parviflora	*Evonymus europaea*
Pinus cembra	*Sinapis alba*
Vicia Faba	

würden schon eher in den Rahmen der allgemeinen botanischen Gesichtspunkte passen. Im ganzen genommen, muß man auch hier wieder sagen, daß durch Serodiagnostikuntersuchungen die Stellung der Amarantaceen nicht näher umschrieben werden kann, als sie es vordem schon war.

7. Fagus silvatica I. S. Nr. 1.

Weitere Impfversuche stellte ich mit Samenauszügen von *Fagus silvatica* an, die auch mit Natronlauge reichlich Eiweiß in Lösung gaben. Ich impfte erst fünfmal intravenös ca. 5 ccm jedesmal alle 2 Tage. Bei der Probeblutentnahme zeigte das Serum den Titer 1 : 3200. Um zu versuchen, ob der Titer noch höher hinaufgehen würde, impfte ich noch viermal intraperitoneal je 10 ccm bis auf die letzten Male, wo das Kaninchen stark fieberte. Ich hörte dann mit den Injektionen auf und schritt zur Entblutung; der Titer war bis auf 1 : 6400 ± gestiegen.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle Nr. XI zusammengestellt. Man ersieht daraus, daß das *Fagus*-Immunserum mit außerordentlich vielen Pflanzen reagiert. Es müssen also in all diesen Pflanzen gemeinsame Eiweißkörper vorhanden sein. Nun enthalten

Corylus Avellana
Prunus Amygdalus
Vicia Faba
Lens esculenta
Cannabis sativa (OH)
Magnolia Kobus,

die sehr stark positiven Ausfall ergaben, im Samen bekanntlich sehr viel Eiweiß ebenso wie *Fagus silvatica*. Es dient bei diesen Pflanzen als Reservestoff für den keimenden Samen, es überrascht keineswegs, daß es also auf Grund serodiagnostischer Untersuchungen in den angeführten Pflanzen ähnlich ist. Gut positive Reaktionen ergaben ferner:

Linum usitatissimum
Pinus cembra
Bignonia
Rheum undulatum
Fagopyrum esculentum
Primula officinalis
Berberis vulgaris
Statice sinuata
Rumex salicifolius
Celtis cordifolia

Kaum positiv reagierten:

Piper album
Aquilegia vulgaris
Sinapis alba
Grevillea robusta
Urtica dioica

Negativen Ausfall ergaben:

Amarantus caudatus
Opuntia
Aristolochia fimbriata
Evonymus europaea
Anamirta cocculus
Ribes grossularia
Portulaca decandra
Juglans regia.

Vom Standpunkt der genetischen Zusammenhänge sind uns sehr viele dieser Reaktionen unverständlich, während uns besonders die stark positiven vom Standpunkt des Eiweißes als Reservestoff, der bei vielen Pflanzen ähnliche chemische Zusammensetzung hat, wenigstens einigermaßen erklärlich sind, obgleich auch dann noch manches zweifelhaft bleibt. Es kann letzteres eigentlich nicht verwundern, wenn man bedenkt, mit wieviel Unbekannten man in einem NaCl- oder NaOH-Auszug eines Samens rechnen muß.

Auch Malligson hat in Königsberg mit *Fagus*-Samen ein Immunserum hergestellt mit dem sehr hohen Titer 1 : 51 200. Auch er hat zahlreiche positive Anschlüsse erhalten, die auch von mir gefunden wurden, mit Ausnahme von *Juglans* und *Portulaca* und einigen wenigen, mit denen ich nicht gearbeitet habe. Er schreibt: „Die Reaktionen mit dem hochwertigen Immunserum *Fagus silvatica* umfassen den ganzen Centrospermenast von seiner Basis bis zur Spitze mit Ausnahme weiter Ableitungen von demselben, wie z. B. der Primulaceen." So erhielt er einen positiven Anschluß von *Fagus* zu *Berberis* und auch von *Fagus* zu *Statice*. Vor der Aufstellung des Stammbaumes von Mez hätte man indessen wohl derartig außerordentlich weitreichende Reaktionen auch nicht auf genetische Zusammenhänge zurückgeführt.

8. Fagus silvatica I. S. Nr. 2.

Um festzustellen, ob durch häufige und schnell aufeinanderfolgende Injektionen ein noch höherer Titer erreicht werden könne, impfte ich ein zweites Kaninchen ebenfalls mit 0,1%igen NaOH-Auszügen von *Fagus silvatica*-Samen. Das Tier war sehr groß und kräftig, es fieberte jedoch bald bei den im Anfang alle zwei Tage vorgenommenen Einspritzungen von 4 ccm in die Ohrvene. Ich gab daraufhin nur noch intraperitoneale Injektionen. Nach fünfwöchentlicher Behandlung schritt ich zur Entblutung. Das Serum hatte den Titer 1 : 12 800.

Ich nahm nun gleichzeitig mit dem *Fagus*-Immunserum Nr. 1 und Nr. 2 Reaktionen vor. Hierbei stellte sich heraus, daß das Immunserum Nr. 2 mit dem höheren Titer auch bis zu höheren Verdünnungen reagierte. Dadurch wurden, wenn auch im allgemeinen die Reaktionen gleichmäßig ausfielen, einige Resultate, die beim *Fagus*-Immunserum Nr. 1 negativ waren, da das Normalserum mitreagierte, hier bei dem *Fagus*-Immunserum Nr. 2 positiv. Das gilt besonders für *Juglans regia*-Antigen, dessen negative Reaktion oben auffällig war. Ferner reagierte *Celtis cordifolia* positiv, das bei dem ersten Versuch überhaupt nicht reagierte, da wohl die Reaktionsstufe noch nicht erreicht war. Es ist ersichtlich, wie große Vorsicht man bei serodiagnostischen Untersuchungen anwenden muß, wenn schon ein etwas höherer Titer aus einem negativen Ausfall einen positiven machen kann, da die Reichweite des Serums größer ist. Positiv fielen noch aus bei Immunserum Nr. 2 *Corylus Avellana* und *Urtica dioica*, negativ *Chenopodium album* und *Saccharomyces cerevisiae*.

9. Statice sinuata I. S.

Schließlich stellte ich Immunisationsversuche mit Samen- und Blütenextrakten von *Statice sinuata* an, um festzustellen, ob diese Familie Reaktionen mit den Centrospermen ergäbe. Leider konnte ich trotz dreizehnmaliger Injektion keinen nennenswerten Titer erzielen, da das Material, das ich verwendete, nicht sehr eiweißreich war. Es zeigte sich hierbei dieselbe Erscheinung, wie ich sie schon einmal machte, als ich mit Samen von *Chenopodium album*, die nur ganz wenig Eiweiß enthielten, ein Immunserum herstellen wollte, wo ich auch trotz zahlreicher Impfungen fast gar keinen Titer erhielt.

Die Reaktionen des *Statice sinuata*-Immunserums sind in Tabelle Nr. XII verzeichnet. Wie vorauszusehen war, reichen dieselben im allgemeinen nur bis zu niederen Verdünnungen. Wie wichtig die parallelen Reaktionen mit Normalserum besonders hier sind, geht daraus hervor, daß ungefähr die Hälfte der Versuche fälschlich positiv gewertet worden wären, hätte man nur eine Normalserumkontrolle 1 : 1000 angesetzt, denn in all diesen Fällen reagierte das Normalserum ebenso weit wie das Immunserum. Besonders stark positive Ausfälle waren selten, nur *Fagopyrum esculentum* reagierte weit. Positiv zu werten wären dann noch:

Rumex salicifolius
Corylus Avellana
Bignonia
Magnolia Kobus
Mirabilis jalapa.

Kaum noch positiv waren:

Sinapis alba
Lens esculenta
Vicia Faba
Primula officinalis
Rheum undulatum
Piper album
Amarantus caudatus
Pinus cembra
Myrtus communis.

Negativen Ausfall ergaben schließlich:

Anamirta cocculus
Ribes grossularia
Berberis vulgaris
Viscum album
Portulaca decandra
Juglans regia
Celtis cordifolia
Chenopodium album
Silene tatarica
Beta vulgaris
Urtica dioica
Fagus silvatica
Salix pentandra
Opuntia
Aristolochia fimbriata
Pisum sativum
Aquilegia vulgaris.

Hiernach hätten also die Plumbaginaceen vielfach Anschluß an die Centrospermen und Polygonales ergeben. Indessen haben sie aber auch wie die anderen Immunsera mit den Ranales und Tubifloren reagiert. Wir haben hier wieder ein gleiches Bild wie bei allen anderen Versuchen, nur in kleinerem Ausmaß. Wäre der Titer des *Statice*-Immunserums hoch gewesen, wären auch die positiven Ausschläge bedeutend weiter gegangen. Es zeigt sich hier noch einmal, daß nicht die genetischen Zusammenhänge in erster Linie die Reaktion bedingen, sondern wahrscheinlich ähnliche Eiweißstoffe, die zum Aufbau und zur Ernährung dienen.

c) Über die Konstanz der Reichweite der Reaktionen.

Um zu zeigen, wie gleichmäßig im allgemeinen die Reaktionen verschiedener Immunsera gegen ein und dasselbe Antigen verlaufen, das auf mehrere Reihen von Kapillaren verteilt ist, habe ich einige Tabellen Nr. XIII und Nr. XIV beigefügt, die oben das betreffende Antigen angeben und an der Seite meine verschiedenen Immunsera sowie deren Reaktionen mit dem Antigen. Die meisten meiner Versuche sind überhaupt auf diese Art entstanden. Diese Anordnung hat den großen Vorteil, daß man das Antigen dabei nur einmal herzustellen braucht und dasselbe dann im Eiweißgehalt stets konstant ist, während bei stets neuem Einstellen des Eiweißgehaltes doch leicht Differenzen in kleinem Umfange auftreten können. Da die Zeit nach 30 Minuten als grundlegend für die Ablesung angenommen wurde, werde ich im folgenden nur diese Werte vergleichen.

1. Statice-Antigen.

Betrachten wir zunächst das Antigen von *Statice sinuata*. Das Normalserum reagierte bis 1 : 200, ebenso das *Beta vulgaris*-Immunserum, alsdann folgt das *Statice sinuata*-Immunserum bis 1 : 400 ±, dies war die Titerstellung. Wir sehen, daß bei dieser Versuchsanordnung, wenn der Titer niedrig ist, leicht fremde Immunsera weiter gegen das Titer-Antigen reagieren, als das Titer-Immunserum. So gaben *Juglans regia*- und *Corylus Avellana*-Immunserum einen Ausschlag bis 1 : 400, *Amarantus caudatus*-, *Fagus silvatica*- und *Celtis cordifolia*-Immunserum bis 1 : 800 ± und *Cannabis sativa*-Immunserum bis 1 : 800. Die Chenopodiaceen haben also negativ reagiert, die Amarantaceen gut positiv; bei zwei so nahe verwandten Familien muß dies Ergebnis überraschen. Die Juglandales und Fagales reagierten ungefähr gleich, was verständlich erscheint, schließlich gaben noch die Ulmaceen und Moraceen einen guten Ausschlag.

2. Fagus silvatica-Antigen.

Bei dem nächsten Antigen von *Fagus silvatica* reicht die spezifische Reaktion mit dem Titerserum weit über die anderen hinaus, was bei hochwertigen Sera die Regel ist. Stark reagierte dann *Juglans*-Immunserum, etwas weniger *Corylus Avellana*-Immunserum. Diese Reaktionen scheinen wieder ganz für die Ansichten von Mez zu sprechen. *Amarantus*-Immunserum reagierte auch hier wieder weiter als *Beta*-Immunserum, was vielleicht am höheren Titer liegt; die Urticales fielen negativ aus.

3. Amarantus caudatus-Antigen.

Bei dem *Amarantus*-Antigen erkennen wir wieder deutlich die Titerstellung, indes überrascht die einzig positive Reaktion mit *Statice*-Immunserum, wenn sie auch sehr schwach ist, da viel verwandtere Immunsera gleichmäßig nur ebenso weit wie das Normalserum reagierten.

4. Beta vulgaris- und Celtis cordifolia-Antigen.

Recht deutlich wird uns die Konstanz in der Reichweite der Reaktionen bei *Beta vulgaris*- und *Celtis cordifolia*-Antigen, wo außer dem Titerserum ganz verschiedene Immunsera ganz gleichmäßige Resultate ergaben.

5. Corylus Avellana-Antigen.

Bei *Corylus Avellana*-Antigen stimmen die Reaktionen eines Teiles gut mit den Verwandtschaftsverhältnissen überein. Fagaceen und Juglandaceen geben gute Ausschläge. Zugleich aber auch *Cannabis*-Immunserum, während *Celtis*-Immunserum schwächer reagiert. Negativ fielen gegen das an reaktionsfähigem Eiweiß reiche *Corylus*-Antigen überhaupt keine Immunsera aus. Überraschend aber ist die Tatsache, daß gerade *Beta*-Immunserum am besten positiv war.

6. Primula officinalis-Antigen.

Betrachten wir das *Primula*-Antigen, so ist die Konstanz der Reaktionen wieder sehr deutlich sichtbar. Sie schwanken nur zwischen 1 : 800 ± und 1 : 1600 ±, und zwar ergaben den höheren Ausschlag die Immunsera mit höherem Titer, ausgenommen *Chenopodium*-Immunserum.

7. Chenopodium album-Antigen.

Verständlich vom systematischen Standpunkt sind auch die Zahlen bei dem *Chenopodium*-Antigen, das sehr eiweißarm war, so daß nur *Chenopodium*-Immunserum und das nahe verwandte *Amarantus*-Immunserum die Reaktionsstufe erreichten.

8. Prunus Amygdalus-Antigen.

Bis jetzt habe ich diejenigen Antigene verglichen, die mit meinen Immunsera schon nach früheren botanischen Forschungen als verwandt anerkannt wurden oder wenigstens von Mez als zum Centrospermenast gehörig bezeichnet sind. Es sollen nun auch die Reaktionen der Immunsera gegen sog. fremde Antigene aufgeführt werden. Sehen wir uns z. B. das *Prunus Amygdalus*-

Antigen an. Wieder tritt uns hier eine Konstanz in der Reichweite der Immunsera entgegen, die meisten reagieren bis 1 : 3200 oder 1 : 6400, das Normalserum dagegen nur bis 1 : 400. Es müßten also die Fagales, die Centrospermen, die Urticales eng mit den Rosales verwandt sein, sollte die Brauchbarkeit der Serodiagnostik für Pflanzenverwandtschaftsverhältnisse unbedingt erwiesen sein. Da aber enge Verwandtschaft zwischen Rosales und Fagales usw. nicht bestehen kann, so geht aus diesen Versuchen hervor, daß es nicht die genetischen Zusammenhänge allein sind, die die Reaktion bedingen, sondern daß unbedingt noch andere Momente eine bedeutende Rolle spielen. Betrachten wir einmal die Herstellung der für die Reaktion angewendeten Eiweißlösungen genauer. Man zieht den Samen mit verdünnten Neutralsalzlösungen oder schwacher Natronlauge aus. Hierbei gehen selbstredend neben anderen chemischen Körpern wie Farbstoffen, Zuckern usw. auch fast sämtliche Eiweiße in Lösung, sowohl Albumine, Globuline als auch bei alkalischen Lösungen die Proteide. Ein großer Teil dieser Eiweißkörper gehört sicher nicht zu den für die Vererbung wichtigen, sondern ist Reserve- und Aufbaustoff. Ob das Eiweiß der Chromosomen nun, obgleich es in geringerer Menge vorhanden ist, allein in die Reaktion eingeht, ist sehr fraglich. Viel eher muß man annehmen, daß die Hauptrolle das Reserveeiweiß in dem Samen spielt.

Schon Gohlke schreibt im Anfang seiner Untersuchungen: „Die biologische Eiweißdifferenzierung zeigt nicht direkt die natürliche Verwandtschaft von Organismen, sondern nur die chemische Verwandtschaft von Eiweißstoffen, die eben in die angewendeten Reaktionen eingehen. Ob dies immer die charakteristischen und für die natürliche Verwandtschaft maßgebenden Eiweißsubstanzen sind, ist fraglich, und so ergibt sich hieraus die Notwendigkeit, die chemischen Grundlagen der biologischen Eiweißdifferenzierung in Zukunft noch bedeutend zu vertiefen und bei Nutzanwendung einer solchen Vorsicht walten zu lassen. Die experimentell festgestellte Eiweißverwandtschaft zweier Organismen ist nur ein Indicium für natürliche Verwandtschaft und noch nicht ein vollgültiger Beweis für solche, es müssen auch die übrigen Indizien damit im Einklang stehen." — Es ist erstaunlich, wie weit sich die Königsberger Schule von diesen anfänglichen Erwägungen entfernt hat.

9. Linum usitatissimum-Antigen.

Gehen wir nun zu dem *Linum*-Antigen über. Fast sämtliche Immunsera von mir reagierten sehr gut dagegen. *Beta*- und *Juglans*-Immunserum sogar bis 1 : 12 800, während das Normalserum nur bis 1 : 400 reichte. Man könnte vielleicht einwenden, daß einzelne Sera heterologe Trübungen überall ergäben und somit völlig unspezifisch wären; da derartige Reaktionen jedoch so ziemlich bei jedem Immunserum von mir auftreten und auch die mit mir arbeitenden Herren oft unspezifische Reaktionen erhielten, kann man nur annehmen, daß das Eiweiß der Antigene vielfach unspezifisch ist.

10. Lens esculenta-Antigen.

Betrachten wir das *Lens*-Antigen, so sehen wir, daß das Normalserum gar keinen Ausschlag ergab, während *Fagus*-, *Juglans*- und *Celtis*-Immunserum gut positiv ausfielen. Gerade die Leguminosen haben derartig unspezifische Reaktionen auch schon bei früheren Forschern wie Kowarski (12) und Sauli (13) gezeigt. Ich werde später darauf zurückkommen.

11. Rumex salicifolius- und Piper album-Antigen.

Sehr gleichartige Resultate hat das *Rumex*-Antigen ergeben, praktisch gesagt, sind hier überhaupt keine Differenzen vorhanden, nur das Normalserum reagierte eine Kleinigkeit schwächer. Ebenso gleichmäßig ist das Bild, das uns das *Piper*-Antigen liefert, sämtliche Immunsera reichen bis 1 : 400 ±, ausgenommen *Cannabis*-Immunserum, welches bis 1 : 400 ging, und *Beta*-Immunserum, das überhaupt nicht reagierte.

12. Pinus cembra-Antigen.

Gegen *Pinus*-Antigen war positiv *Fagus*-Immunserum, obgleich hier eine Verwandtschaft wohl ausgeschlossen ist. Sämtliche andere Immunsera und das Normalserum ergaben 1 : 400 ± oder 1 : 400.

13. Salix pentandra-Antigen.

Bei dem *Salix*-Antigen zeigen *Corylus*-, *Cannabis*- und *Berberis*-Immunserum positive Resultate, allenfalls noch *Amarantus*- und *Celtis*-Immunserum. Derartige Reaktionen haben ähnlich auch die in Königsberg arbeitenden Herren erhalten, indessen erscheinen sie nach den vorherigen Betrachtungen genau so unspezifisch und viel zu weite Gebiete umfassend, wie sämtliche Versuche sonst.

14. Hamamelis virginiana-Antigen.

Das letztere ersehen wir auch wieder bei dem *Hamamelis*-Antigen. Zunächst war *Cannabis*-Immunserum außerordentlich stark positiv, obgleich hier enge Verwandtschaft durchaus abgelehnt werden muß, der gut positive Ausfall bei *Celtis*-Immunserum muß ebenfalls überraschen. Indessen hat auch Gohlke mit *Hamamelis*-Antigen gegen *Juglans*-Immunserum eine positive Reaktion erhalten, woraus hervorgeht, daß auch die Königsberger Schule nicht immer in den Kreis ihrer Anschauungen passende Resultate erzielt. Daß bei mir dieselbe Reaktion negativ verlief, kann leicht an meinem niederen Titer und der damit bedingten geringeren Reichweite gelegen haben. Eine völlig unspezifische Reaktion sehen wir bei Gohlke z. B. auch, wenn er zwischen Saxifragaceen- und *Cucurbita*-Immunserum eine positive Reaktion erhält.

15. Saccharomyces cerevisiae-Antigen.

Ein wirklich mit der natürlichen Verwandtschaft übereinstimmendes Bild gibt uns das Hefe-Antigen. Hiergegen haben sämtliche Immunsera der höheren Pflanzen negativ reagiert.

Nachdem wir so in vielen Fällen die Konstanz der Reichweite der Immunsera sowohl gegen nah- als auch fernverwandte und selbst völlig unverwandte Pflanzen deutlich ausgeprägt gesehen haben, können wir wohl nicht umhin, anzunehmen, daß das Eiweiß des Pflanzensamens in zahlreichen Fällen sehr ähnlich und stark unspezifisch ist. Es wäre sonst einfach nicht zu erklären, wieso ein *Fagus*-Immunserum Nr. 1 und ein *Cannabis*-Immunserum Nr. 3 mit gleichem Titer gegen ein *Corylus Avellana*- und ein *Prunus Amygdalus*-Antigen fast gleich weit reagierten.

D. Über die Reziprozität der Reaktionen.

Mez betont, daß gerade durch die reziproke Bestätigung seiner Reaktionen die Zuverlässigkeit seiner Methode bekräftigt sei. Bei einer Versuchsanordnung, die leicht jede Fehlerquellen ausschalten läßt, bedarf es keiner stets wiederholten reziproken Resultate, indessen sind serodiagnostische Untersuchungen, besonders wenn sie auf Verwandtschaftsforschungen hinauslaufen, sehr diffizil und die kleinsten Ursachen können hier falsche Bilder ergeben. Die Königsberger Schule hat nun in den meisten Fällen, wie sie sagt, ihre Versuche reziprok bestätigt gefunden. Dies ist jedoch bei meinen Reaktionen durchaus nicht immer der Fall gewesen. Warum dies oft nicht der Fall sein konnte, werde ich später erläutern.

Zunächst möchte ich einige Beispiele angeben:

Amarantus caudatus-Antigen reagierte negativ mit:

Fagus-Immunserum	reziprok nicht bestätigt
Corylus- „	„ „ „
Celtis- „	„ „ „
Cannabis- „	„ „ „
Berberis- „	„ „ „

Celtis cordifolia-Antigen reagierte positiv mit:

Juglans-Immunserum	reziprok nicht bestätigt
Cannabis- „	„ „ „
Beta- „	„ „ „
Amarantus- „	„ „ „
Chenopodium- „	„ „ „
Corylus- „	„ bestätigt.

Corylus Avellana-Antigen reagierte positiv mit:

Juglans-Immunserum	reziprok nicht bestätigt
Cannabis- „	„ „ „
Beta- „	„ „ „
Amarantus- „	„ „ „
Celtis- „	„ bestätigt
Statice- „	„ „
Fagus- „	„ „

Fagus silvatica-Antigen reagierte positiv mit:

Juglans-Immunserum	reziprok nicht bestätigt
Amarantus- „	„ „ „
Corylus- „	„ bestätigt
Cannabis- „	„ „

Juglans regia-Antigen reagierte negativ mit:

Corylus-Immunserum	reziprok nicht bestätigt
Celtis- „	„ „ „
Beta- „	„ bestätigt
Statice- „	„ „

Statice sinuata-Antigen reagierte positiv mit:

Amarantus-Immunserum	reziprok	schwach	bestätigt
Fagus- „	„	nicht	„
Celtis- „	„	„	„
Juglans- „	„	„	„
Corylus- „	„	bestätigt	
Beta- „	„	„	

Betrachten wir den Fall beim *Amarantus*-Antigen. Es enthielt wahrscheinlich, wie aus all meinen Versuchen hervorging, wenig reaktionsfähiges Eiweiß, so daß fast sämtliche Immunsera negativ dagegen reagierten. Das *Amarantus*-Immunserum dagegen war durch intensive Behandlung verhältnismäßig hochwertig und gab gegen *Fagus*-, *Corylus*-, *Celtis*-, *Cannabis*- und *Berberis*-Antigen, die reich an reaktionsfähigem Eiweiß sind, einen kräftig positiven Ausschlag. Gerade umgekehrt liegen die Dinge bei dem *Corylus*-Antigen. Es enthält sehr viel reaktionsfähiges Eiweiß, so daß fast sämtliche Immunsera positiv dagegen reagieren mußten, während das *Corylus*-Immunserum auch nicht stärker als die anderen Sera war und daher gegen die an reaktionsfähigem Eiweiß armen Antigene wie *Amarantus*, *Beta*, *Statice* und *Cannabis* (NaCl) negativ ausfiel. Das gleiche gilt für das an reaktionsfähigem Eiweiß reiche *Celtis*-Antigen.

In obiger Betrachtung glaube ich den Grund für die oft nicht erfüllte Reziprozität zu sehen. Etwas näher möchte ich auf die Reaktionsfähigkeit eines Antigens eingehen. Es besitzen meist diejenigen Antigene viel derartiges Eiweiß, die an und für sich schon sehr eiweißreich sind, wie *Pisum*, *Prunus Amygdalus*, *Fagus*, *Corylus*, *Berberis* usw. Sicherlich enthalten sie alle sehr ähnliche unspezifische Eiweißkörper in großer Menge, so daß das artspezifische Eiweiß dagegen stark zurücktritt, da man annehmen kann, daß das typische Eiweiß unabhängig von dem Reserveeiweiß in allen Samen in fast gleich minimaler Menge vorhanden ist. Bei der Gesamteiweißeinstellung, die in diesen Fällen eine Gesamteiweißverminderung bedeutet, wird die Lage noch zuungunsten des spezifischen Eiweißes verschoben, da dann letzteres in so hoher Verdünnung auftritt, daß es nicht mehr reaktionsfähig ist.

E. Zusammenfassender Vergleich zwischen der Präzipitationsmethode von Mez und der Kapillarmethode.

Wie aus all diesen Versuchen hervorgeht, fand ich die Brauchbarkeit der serodiagnostischen Untersuchungen für Verwandtschaftsverhältnisse im Pflanzenreich ebensowenig bestätigt, wie die mit mir in Berlin arbeitenden Herren, die zu gleicher Zeit unabhängig von mir ähnliche Untersuchungen vorgenommen hatten. Wir legten uns deshalb noch einmal die Frage vor: Wie ist es möglich, daß in Königsberg seit Jahren die Serodiagnostik für die Klärung der Systematik benutzt wird, während uns dies nicht gelingen wollte. Um auf das genaueste die Methode von Mez und die Kapillarmethode zu vergleichen, erhielt ich von Prof. Dr. Gilg den Auftrag, gemeinsam mit Herrn Bärner eine Reihe von Versuchen anzustellen, bei denen noch einmal zu gleicher Zeit gleiche Versuche nach beiden Arten der Ablesung vorgenommen werden sollten.

Ich habe diese Versuche in der Liste Nr. XV zusammengefaßt. Betrachtet man die Ergebnisse bei dem Antigen von *Fagus silvatica*, die nach der Methode von Mez gewonnen wurden, so erkennt man, daß bereits nach 8 Stunden eine Trübung der Antigenkontrolle im Brutschrank stattfand. Sämtliche Reaktionen mit dem *Fagus*- und dem *Cannabis*-Immunserum waren also nach 12 Stunden illusorisch. Noch verwertbar wären höchstens die Ablesungen bis zur 8. Stunde, eine Gegenüberstellung dieser Resultate mit denen der Kapillarmethode ergibt ein fast völlig gleiches Ergebnis.

Fagus-Antigen

	Methode	
	Mez 8 Std.	Kapillar 30 Min.
reagierte mit *Fagus*-Immunserum bis	3200	6400
„ „ *Cannabis*- „ „	400	400
„ „ Normalserum „	200	200

Bei dem Antigen von *Cannabis sativa* fand ebenfalls schon nach 8 Stunden eine Trübung der Antigenkontrolle statt, so daß auch hier eine nach 12 Stunden erfolgte Ablesung ungenau gewesen wäre. Die Resultate bis zur 8. Stunde im Brutschrank und nach 30 Minuten nach der Kapillarmethode stimmen folgendermaßen überein:

Cannabis-Antigen

	Methode	
	Mez 8 Std.	Kapillar 30 Min.
reagierte mit *Cannabis*-Immunserum bis	6400 ±	6400 ±
„ „ *Juglans*- „ „	1600 ±	1600
„ „ Normalserum „	800	800

Das *Corylus*-Antigen trübte sich nach 8 Stunden. Eine Gegenüberstellung wie oben gäbe auch wieder hier eine ungefähre Gleichheit.

Corylus-Antigen

	Methode	
	Mez 8 Std.	Kapillar 30 Min.
reagierte mit *Corylus*-Immunserum bis	6400 ±	6400
„ „ *Cannabis*- „ „	800 ±	800 ±
„ „ Normalserum „	400	400

Bei dem Antigen von *Prunus Amygdalus* fand die Trübung nach 10 Stunden in der Antigenkontrolle statt. Würde man hier die Ergebnisse bis zur 10. Stunde und die bis zu 30 Minuten in den Kapillaren vergleichen, so erhielte man:

Prunus Amygdalus-Antigen

	Methode	
	Mez 10 Std.	Kapillar 30 Min.
reagierte mit *Cannabis*-Immunserum bis	1600	6400
„ „ *Juglans*- „ „	800	400
„ „ Normalserum „	400	400

Obgleich in diesem Falle bei *Cannabis*-Immunserum die Kapillarröhren weiter reagieren, so ist dennoch auch hier *Cannabis* positiv gegen *Prunus Amygdalus* nach beiden Methoden ausgefallen, obgleich eine Verwandtschaft nicht vorliegen kann. Ein Vergleich beider Methoden beim Antigen von *Linum usitatissimum* war überhaupt nicht möglich, da eine Eigentrübung des Antigens schon nach 4 Stunden stark in Erscheinung trat.

Ein *Sapindus Saponaria*-Antigen hielt sich bis zur 8. Stunde klar; ein Vergleich beider Ablesungen gibt folgendes Bild:

Sapindus-Antigen

	Methode	
	Mez 8 Std.	Kapillar 30 Min.
reagierte mit *Cannabis*-Immunserum bis	800	1600
„ „ *Juglans*- „ „	400 ±	400
„ „ Normalserum „	400	400

Hier haben wir wieder einen Fall, wo die Kapillarreaktionen nach 30 Minuten einen weiteren Ausschlag zeigen als die Methode von Mez nach 8 Stunden. Nach beiden Methoden ist jedoch *Cannabis* mit *Sapindus* positiv ausgefallen, was phylogenetisch nicht verständlich ist.

Im ganzen genommen konnten uns diese Untersuchungen nur wieder bestätigen, daß sich die Antigene nach der Methode von Mez sämtlich vor Ablauf von 12 Stunden trübten. Man kann sagen, allgemein stimmen die Reaktionen nach beiden Methoden, solange die Kontrollen klar bleiben, überein. Man erhält in beiden Fällen positive Reaktionen zwischen verwandten und nicht verwandten Pflanzen. Den Vorzug mußten wir unbedingt wieder der allgemein in der Praxis anerkannten Kapillarmethode geben. Sie arbeitet vollkommen exakt und sicher und läßt nicht die steten Zweifel zwischen Trübung und Niederschlag auftreten, die eine genaue Ablesung nach 12 Stunden oft zur Unmöglichkeit macht. Zudem treten die Ringe an der Berührungszone beider Flüssigkeiten in so kurzer Zeit auf, daß die Gefahr der Eigentrübung der Antigene ausgeschaltet wird. Schließlich können wir in den Kapillaren oft noch in höheren Verdünnungen einen positiven Ausfall feststellen, wo nach der Methode von Mez keine deutliche Reaktion mehr sichtbar geworden ist.

F. Über die Konglutination.

In Königsberg wurde als Hauptmethode nicht die Präzipitation angewendet, sondern die sog. Konglutination. Fast sämtliche Resultate der Königsberger Schule sind in erster Linie nach ihr gewonnen und durch die Präzipitation nachher bestätigt. Es sollen nur wenige Fälle bekannt sein, wo beide Methoden der Königsberger nicht übereinstimmten. Da die Kapillarmethode im wesentlichen gleiche Resultate wie die Präzipitation liefert, müßte sie auch mit der Konglutination übereinstimmen.

Um jedoch ganz sicher zu gehen, werden unter der Leitung sowohl von Herrn Prof. Dr. Gilg und Dr. Schürhoff wie auch des Herrn Oberregierungsrats Prof. Dr. Manteufel Versuche über die Konglutination von uns angestellt. Die wesentlichen Ergebnisse darüber werden noch folgen, ich möchte an dieser Stelle nur einige theoretische Betrachtungen und einige Versuche erwähnen. Bordet und Streng (14—18) gelang es nachzuweisen, daß das Rinderserum einige Stoffe enthält, die sie als Konglutinine bezeichneten. Die Forscher wendeten die von ihnen als Konglutination bezeichnete Methode zum erstenmal an in Arbeiten, die sie über die Zusammenballung von Blutkörperchen veröffentlichten. Streng untersuchte diese Methode für die Zusammenballung von Mikroben. Er behauptet, daß die Konglutination streng spezifisch ist und für diagnostische Zwecke benutzt werden kann. Mehrere Forscher wie Sleeswijk (19), Cohen (20), Gengou (21), Jacubäus (22) und Barikine (23) haben außerdem mit dieser Methode gearbeitet. Daraufhin hat Sauli (13) die Konglutination als erster für Differenzierung von pflanzlichem Eiweiß gebraucht. In der medizinischen und forensischen Praxis ist sie heute kaum noch üblich. In Königsberg wird sie in folgender Weise angewendet: Man stellt sich ein Antigen in der Verdünnung 1 : 200 her und verteilt dies zu 1 ccm auf 5 Agglutinationsröhrchen, dann gibt man das Immunserum in fallenden Mengen von 0,08 ccm abwärts hinzu, das 5. Gläschen enthält reines Antigen. Die so beschickten Gläser werden 2 Stunden bei 37° konstanter Temperatur in den Brutschrank gestellt, diesen Vorgang nennt man das Sensibilisieren des Antigens. Nach dieser Zeit nimmt man die Gläschen aus dem Brutschrank und setzt 0,4 ccm aktives frisches Rinderserum hinzu. Dadurch soll vermöge des im Rinderserum vorhandenen Konglutinins eine sofortige Zusammenballung und Ausflockung bei weiterem Aufenthalt im Brutschrank stattfinden.

Gegen diese Methode erheben sich folgende Bedenken. Es wird in Königsberg stets mit einer Antigenverdünnung 1 : 200 gearbeitet. Wir haben aber bei der Kapillarmethode und auch bei der Präzipitationsmethode nach Mez in den Verdünnungen 1 : 200 eigentlich fast immer durch Normalserum schon Trübungen oder Ausflockungen erhalten. So schreibt Gohlke selbst an einer Stelle seiner Arbeit: „Sieht man von den Reaktionen bis zu Verdünnungen 1 : 200 ab, da in diesen Verdünnungen auch Niederschläge durch Normalsera hervorgerufen werden können, usw.“ Außerdem fanden, wie schon erwähnt, zahlreiche Forscher (10) die Tatsache bestätigt, daß in niederen Verdünnungen schon Normalserum ein Präzipitat ergeben kann. Man gibt bei der Konglutination Rinderserum hinzu, was natürlich auch ein Normalserum ist, und zwar in sehr erheblicher Menge, fast die Hälfte des gesamten Volumens des Antigens 1 : 200. Bei einigen Versuchen, die ich anstellte, trat denn auch nach Zugabe von je 0,4 ccm Rinderserum in allen Gläsern, die Kontrollprobe in Glas 5 mit eingeschlossen, eine sofortige Opaleszenz bis Trübung auf.

Will man aber wissenschaftlich genau arbeiten, so muß die Forderung der Klarheit der Antigenkontrollen unbedingt bewahrt bleiben, wie es Mez auch zu wiederholten Malen betont hat.

Selbst in Tabellen von Sauli, auf den sich die Forschungen der Königsberger Schule bezüglich der Konglutination stützen, finden wir bei dem Kontrollglas 5 Tabelle 1 (Antigen mit Rinderserum ohne Immunserum) nach 2 Stunden ein Kreuz angegeben, es muß also Ausflockung in der Kontrolle stattgefunden haben. Gohlke, der denselben Versuch bei demselben Antigen *Brassica rapa rapifera* anstellte, verzeichnet selbst nach 2½ Stunden nach Zugabe des Rinderserums keine Ausflockung, nicht einmal eine Trübung. Überraschen muß dies unbedingt.

Meine Versuchsreihe stellte ich gemeinsam mit Herrn Eisenträger und Herrn Wermund an, die über dies Gebiet noch eingehender arbeiten werden. Wir stellten uns ein *Corylus Avellana*- und ein *Prunus Amygdalus*-Antigen in der Verdünnung 1 : 200 her. Jedes Antigen verteilten wir auf 4 Reihen von je 6 Versuchsgläsern, die ersten 5 Gläser für die oben erwähnten Versuche und das 6. Glas für eine Kontrolle des Antigens mit 0,08 ccm Normalserum. Wir ließen nun vier verschiedene Immunsera gegen beide Antigene zu gleicher Zeit reagieren.

Wie aus beigefügter Liste Nr. XVI hervorgeht, traten sowohl in den Gläsern 1 und 2, als auch in der Normalserumkontrolle Glas 6 nach Ablauf der 2 Stunden Brutschrank ohne Zusatz von Rinderserum schon vielfach Trübungen auf. Es unterschied sich der Vorgang in den erwähnten Gläsern bis hierher ganz und gar nicht von der Präzipitationsmethode. Als wir dann zu jedem Glase 0,4 ccm Rinderserum gaben, wurden jetzt überall Trübungen oder Opaleszenzen sichtbar, auch in Glas 5, das bis jetzt klar geblieben war und als Kontrolle dient. In der Zugabe des Rinderserums sahen wir nur eine Verschleierung der Reaktion. Von einer genauen Auswertung dieser Versuche mußten wir aus diesem Grunde Abstand nehmen.

Um die Frage der Trübung der Antigene in der Verdünnung 1 : 200 durch Zusatz von Rinderserum auch in den Kapillaren nachzuprüfen, nahm ich folgende Versuche vor. Ich füllte in einige Kapillarröhrchen aktives frisches Rinderserum und überschichtete dasselbe in jedem Versuchsgläschen mit einem anderen Antigen in der Verdünnung 1 : 200. Nach 10 Minuten waren in allen Ringe vorhanden, die nach 30 Minuten z. T. recht stark waren.

Antigene 1 : 200	0	10	20	30	60	Minuten
Fagus silvatica	n.	p.	pp.	pp.	pp.	
Corylus Avel.	p.	pp.	pp.	pp.	pp.	sämtlich mit
Cannabis sat.	pp.	pp.	pp.	pp.	pp.	Rinderserum
Silene gall.	n.	n.	p.	pp.	pp.	unterschichtet
Physiol. NaCl	n.	n.	n.	n.	n.	

Die obenstehende Tabelle zeigt uns deutlich an, daß alle 4 Antigene mit Rinderserum positiv reagierten (in der Tabelle bedeutet: n. = negativ, p. = positiv, pp. = stark positiv), während die Kontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung klar blieb.

Es wäre selbstverständlich verfehlt, auf Grund dieser wenigen Untersuchungen über die Konglutination in dieser Form ein abschließendes Urteil zu fällen, das werden erst zahlreiche Versuche erlauben. Indessen glaube ich, aus den oben angeführten Bedenken über die Anwendung einer Antigenverdünnung 1 : 200 schließen zu können, daß die Kapillarmethode der Konglutination in der Genauigkeit zum mindesten gleichkommt.

G. Schlußfolgerungen.

Zusammenfassend möchte ich sagen, daß die Methode der Präzipitation, wie sie in Königsberg angewendet wird, infolge der allzu langen Einwirkung von Immunserum auf Antigen meist verschleierte Bilder liefert. Die Kapillarmethode dagegen schaltet diese Nachteile aus und gestattet es, eine exakte wissenschaftliche Beurteilung jeder Reaktion zu geben; auch der Konglutination kommt sie auf jeden Fall in der Genauigkeit der Ablesung gleich, ja sie ist ihr wahrscheinlich sogar erheblich überlegen. Die Kapillarmethode bewies uns bei zahllosen Versuchen völlig einwandfrei, daß sowohl verwandte wie nichtverwandte Pflanzen positive Reaktionen untereinander geben, daß es also nicht die genetisch wichtigen Eiweißkörper sind, die in erster Linie die Reaktion auslösen, sondern wahrscheinlich ganz unspezifische Reservestoffe.

a) Eigenes Ergebnis.

Während also Gohlke zu dem Ergebnis gelangte, daß die Serodiagnostik eine durchaus zuverlässige Methode zur Feststellung zweifelhafter Verwandtschaftsverhältnisse im Pflanzenreiche sei, und Malligson, darauf aufbauend, die Entwicklung des Centrospermenastes untersuchte und festlegte, kann ich mich dem nicht anschließen, sondern halte die Serodiagnostik für botanische Verwandtschaftsforschungen nicht geeignet. Es gelingt einzig und allein der Identitätsnachweis für Pflanzeneiweiß und auch dieser nur bei quantitativen Arbeiten.

b) Literatur.

Vergleiche.

Überblickt man die Literatur der botanischen Serumforschung, so gewahrt man bei sorgfältigem Studium, daß viele Autoren ähnliche Versuchsergebnisse anführen, wie wir sie gefunden haben. Als erster hat Kowarski (12) Immunsera gegen Pflanzeneiweiß hergestellt und eingehender damit gearbeitet. Durch Identitätsreaktionen gelang es ihm, tierisches und pflanzliches Eiweiß voneinander zu scheiden. Denselben Nachweis erbrachte auch Schütze (24), dem es aber nicht möglich war, verschiedene Hefesorten (25, 26) biologisch zu differenzieren. Wiederum war es Kowarski, dem es glückte, mit einem Immunserum gegen Albumosen diese von Erbsmehl zu unterscheiden. Er stellte dann auch Reaktionen innerhalb verschiedener Antigene von verwandten und nichtverwandten Pflanzen an. Bei diesen Versuchen erhielt er mit einem Weizen-Immunserum folgende überraschende Resultate: Es reagierten gegen dasselbe positiv Weizen-Antigen, Roggen-Antigen, Gersten-Antigen und schwach auch Erbsen-Antigen, während Hafer-Antigen einen negativen Ausfall ergab. Nach meinen Untersuchungen braucht man diesen Beobachtungen im Gegensatz zu Gohlke durchaus kein gewisses Mißtrauen entgegenzubringen. Kowarski behauptet ferner, daß die pflanzlichen Eiweißkörper lange nicht so verschieden seien, wie die animalischen. Gohlke bestreitet auch dies. Nach unseren Erfahrungen indessen müssen wir Kowarski vollkommen zustimmen. Jedenfalls sind die Eiweißkörper, die durch NaCl- oder NaOH-Lösungen aus dem Samen

herausgelöst werden, sicherlich bei vielen nicht genetisch zusammengehörigen Pflanzen sehr ähnlich.

Magnus und Friedenthal (27), die die Hefe und die Trüffel auf ihre Verwandtschaft untersucht hatten, stellten es sich zur Aufgabe (28), die Ergebnisse von Kowarski nachzuprüfen, da sie sich sagten: sollten die Beobachtungen von Kowarski richtig sein, so wäre der Beweiskraft der Verwandtschaftsreaktion bei Pflanzen das größte Mißtrauen entgegenzubringen und die Methode nicht verwendbar. Sie gingen hierbei so vor, daß sie Weizen- und Erbsensamen zerkleinerten und mit physiologischer Kochsalzlösung auszogen. Darauf filtrierten sie durch Tonfilter und verdünnten die Auszüge mit Kochsalzlösung. Hierbei wurde der Erbsenauszug trübe, wie sie berichten, so daß sie ihn ungefähr zehnmal filtrierten und immer wieder verdünnten, bis er klar blieb und ungefähr gleichen Eiweißgehalt gehabt haben soll wie das Weizen-Antigen. Hierbei ist zu bedenken, daß eine zehnmal abfiltrierte und verdünnte kolloidale Eiweißlösung vielleicht kaum noch als ursprünglich zu bezeichnen ist. Alsdann gaben die Forscher zu 2 ccm Weizen-Immunserum nur 0,02 ccm Erbsen-Antigen und zu 2 ccm Erbsen-Immunserum nur 0,02 ccm Weizen-Antigen, während man doch sonst zu 1 ccm Antigen 0,1 ccm Immunserum gibt. Besonders wenn man Antigene prüfen will, müßte man viel Antigen und wenig Serum nehmen statt umgekehrt. Die Forscher fanden bei ihren Untersuchungen nur die spezifische Reaktion gewahrt, wodurch sie Kowarski widerlegt zu haben glauben. Es ist nicht zu bezweifeln, daß die spezifische Reaktion bei gleichem Eiweißgehalt und gleicher Titerhöhe stets die stärkste Reaktion auszulösen vermag.

Daß aber im schwächeren Grade auch nichtverwandte Pflanzen mitreagieren, zeigen wieder Untersuchungen von Wedelstadt und Fellmer (29). Sie stellten ein Saubohnen-Immunserum mit dem Titer 1 : 25 600 her und fanden, daß positiv damit Maierbse, Wicke, Linse und Hirse reagierten, während bis zur Verdünnung 1 : 200 Hafer, Mais, Gerste, türkische und weiße Bohne einen Ausschlag ergaben. Erdnuß reagierte bis 1 : 100. Wir sehen hier wieder Resultate, die die Brauchbarkeit der Serodiagnostik für Pflanzenverwandtschaftsforschungen genau so in Frage stellen wie unsere eigenen Beobachtungen. Die nah verwandte türkische und weiße Bohne reagieren negativ gegen Saubohne, während Hirse, die nicht verwandt ist, positiv ausfällt. Bei Kowarski reagierte eine Graminee mit einer Leguminose, bei Wedelstadt und Fellmer eine Leguminose mit einer Graminee. Gohlke schreibt zu dem letzteren Falle wieder: „Es müssen also, wie schon gesagt, irgendwelche Störungen bei der Reaktion aufgetreten sein, die zu Irrtümern Anlaß gegeben haben.“ Wir haben indessen keine Ursache, diese Untersuchungen in Frage zu stellen.

Endlich möchte ich noch erwähnen, daß auch Sauli bei Konglutinationsversuchen mit einem *Brassica rapa rapifera*-Immunserum positive Reaktionen gegen ein Erbsen-Antigen erhalten hat. Zwar traten sie erst nach längerer Zeit und nicht sehr stark auf, bestätigen aber doch immerhin unsere früheren Angaben.

Aus all diesen Untersuchungen geht hervor, daß das Eiweiß der Erbsensamen mit vielen Eiweißkörpern anderer Pflanzensamen ähnlich sein muß. Betrachten wir deshalb die Reaktionen einmal vom chemischen Standpunkt. Sowohl die Leguminosenglobuline enthalten viel Aminoglutarsäure als auch die Glutene, die Eiweißkörper der Getreidekörner. Wir müssen also annehmen, daß die Kaninchen bei Einspritzung von Weizen- oder Erbsensamenextrakten besonders gegen derartige ähnliche Eiweißkörper immunisiert werden, und finden die Bestätigung dafür in den Reaktionen. So finden wir Aminoglutarsäure in reichem Maße auch bei *Cannabis sativa* im Edestin

und höchst wahrscheinlich auch im Amandin der Mandel. Im Hinblick hierauf erscheinen uns vielleicht die zahlreichen positiven Reaktionen gerade gegen *Prunus Amygdalus* verständlich. Bei dem *Cannabis*-Antigen konnte dies nicht so sehr in Erscheinung treten, da die Darstellung des Antigens, wie erwähnt, Schwierigkeiten machte.

Sicherlich enthalten daneben die Sameneiweißkörper auch stets ganz spezifische Bestandteile, was wir daraus schließen müssen, daß die spezifische Reaktion beim quantitativen Arbeiten immer am stärksten ausfällt. Jedoch scheint dieses artspezifische Eiweiß, wie ich es schon einmal betonte, in sehr kleiner Menge vorhanden zu sein, so daß es bei Verwandtschaftsreaktionen kaum gegenüber dem anderen nicht typischen Eiweiß zur Geltung kommt. Wäre es möglich, das Eiweiß der Chromosomen allein zur Reaktion zu bringen, so wäre die Serodiagnostik vielleicht für die Systematik brauchbar.

Eine Bestätigung meiner Annahme von unspezifischem Eiweiß in gleichen Organen verschiedener Lebewesen finden wir auch im Tierreich. Es gelang Uhlenhuth, ein Kaninchen mit Hühnereidotter zu immunisieren und so Eidotterserum zu gewinnen. Mit einem solchen gelang es ihm leicht, den Dotter vom Eiklar biologisch zu unterscheiden. Indessen war eine sichere Differenzierung von Hühnerdotter, Taubendotter und Gänsedotter nicht möglich mit diesem Eidotterserum. Ähnliche Resultate erhielt Uhlenhuth bei Augenlinsen-Eiweißserum, wo sich keine Reaktion mit anderen Eiweißkörpern anderer Organe, z. B. dem Glaskörpereiweiß desselben Tieres ergaben. Statt dessen aber ließ sich das Linseneiweiß fast aller Tiere nicht von dem ersten unterscheiden.

Wenn es nun trotzdem gelingt, bei Tierversuchen mit Hilfe von Blutserum gültige Verwandtschaftsreaktionen zu bekommen, so kann dies nur daran liegen, daß das Blutserum weit mehr artspezifische Stoffe enthält als die angegebenen Organe, und auf das Pflanzenreich übertragen, heißt dies: Das Serum eines Tieres besitzt typische Stoffe in weit größerer Menge als das Gesamteiweiß eines Pflanzensamens, das in der Hauptsache als Reservestoff dient.

Die Chemie der Eiweißkörper indessen ist noch viel zu ungeklärt, um dies einwandfrei nachweisen zu können. Es sollen die letzten Ausführungen nur ein andeutender Versuch sein, die durch unsere Experimente bestätigte Nichtbrauchbarkeit der Serodiagnostik für botanische Verwandtschaftsforschungen zu erklären.

H. Literaturverzeichnis.

1. Engler-Gilg: Syllabus der Pflanzenfamilien. 1924.
2. Mez: Anleitung zu serodiagnostischen Untersuchungen für Botaniker. Botanisches Archiv. 1922. Bd. 1.
3. Uhlenhuth und Weidanz: Technik und Methodik des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens. Aus Kraus und Levaditi, Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung.
4. Nuttall: The new biological test for blood in relation to zoological classification. Proceedings of the Royal Society of London 1901. Nr. 69, und British med. Journal 1901. 11. May, 14. Sept.

   Nuttall: Progress report upon the biological test for blood in relation to zoological classification. British med. Journ. 1902. 5. April.

   Nuttall: Further observations upon the biological test for blood. Reed 20 January 1902. Proceedings of the Cambridge Philosophical Society. Vol. 11. Pt. 5.
5. Malligson: Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb des Centrospermen-Astes des Pflanzenreiches. Bot. Archiv. 1922. Bd. 1.

6. v. Wettstein: Handbuch der systematischen Botanik. Leipzig und Wien 1911.
7. Gohlke: Die Brauchbarkeit der Serumdiagnostik für den Nachweis zweifelhafter Verwandtschaftsverhältnisse im Pflanzenreiche. Dissertation Königsberg 1914.
8. Lange: Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der *Ranales*. Bot. Arch. Bd. 5.
9. Gilg und Schürhoff: Die Serodiagnostik in der botanischen Verwandtschaftsforschung. Engler's bot. Jahrb. Berlin 1926.
10. a) Bertarelli: Die Verwendung der biologischen Methode zur Auffindung und Diagnose der Hülsenfruchtmehle mit besonderer Berücksichtigung der Wicke. Centralbl. f. Bakteriologie usw. Abt. 2. Bd. 11.
    b) Magnus und Friedenthal: Siehe Nr. 27/28.
    c) Wedelstadt und Fellmer: Siehe Nr. 29.
    d) Gohlke: Siehe Nr. 7.
    e) Sturm: Monographische Studien über *Adoxa Moschatellina* L. Vierteljahrsschrift der Naturforsch.-Ges. in Zürich. 1925. Jahrg. 1910.
    f) Guttmann: Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse der Archegoniatae. Bot. Archiv. Bd. 7.
11. Buchholz: Angegeben in Köhler's Medicinalpflanzen.
12. Kowarski: Über den Nachweis von pflanzlichem Eiweiß auf biologischem Wege. Deutsche med. Wochenschr. 1901. Bd. 27.
13. Sauli: Über den Nachweis von verschiedenartigem pflanzlichen Eiweiß durch Konglutination. Zeitschr. für Immunitätsforschung. 1911. Bd. 9.
14. Bordet und Streng: Les phénomènes d'adsorption et la conglutinine du sérum de boeuf. Centralbl. für Bakteriologie. 1. Abt. Originale. Bd. 49.
15. Streng: Studien über das Verhalten des Rinderserums gegenüber den Mikroben. Versuch einer neuen serodiagnostischen Methode. Zentralbl. für Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 50.
16. Streng: Agglutinin oder Konglutinin. Zentralbl. für Bakt. usw. Bd. 52. 1909. Heft 4.
17. Streng: Über das Vorkommen der Konglutinine in den Seren verschiedener Tiere, besonders der Wiederkäuer. Zeitschr. für Immunitätsforschung. 1909. Bd. 2.
18. Streng: Alexin oder Proagglutinoid? Zeitschr. für Immunitätsforschung. Bd. 4. 1910.
19. Sleeswijk: Untersuchungen über Serumhypersensibilität. Zeitschr. für Immunitätsforschung. 1909. Bd. 2.
20. Cohen: La Méningite cérébro-spinale septicémique, Annales de l'Inst. Pasteur 1909.
21. Gengou: De la conglutination du mastic et de l'amidon. Zeitschr. für Immunitätsforschung. Bd. 11. Nr. 6.
22. Jacubaeus: Über die Anwendbarkeit von Konglutinationsreaktion mit Ochsenserum bei Wassermann's Reaktion. Zeitschr. für Immunitätsforschung. 1911. Bd. 8.
23. Barikine: Contribution à l'étude sur la conglutination du précipité specifique. Zentralbl. für Bakt. usw. 1910. Bd. 56.
24. Schütze: Weitere Beiträge zum Nachweis verschiedener Eiweißarten auf biologischem Wege. Zeitschr. für Hygiene usw. 1909. Bd. 38.
25. Schütze: Zur Frage der Differenzierung einzelner Hefearten mittels der Agglutinine. Zeitschr. für Hygiene usw. Bd. 44. 1903.
26. Schütze: Zur Frage der Differenzierung einzelner Hefearten auf dem Wege der Komplementbindung. Zeitschr. für Immunitätsforschung. 1911. Bd. 8.
27. Magnus und Friedenthal: Ein experimenteller Nachweis natürlicher Verwandtschaft bei Pflanzen. Berichte der Deutschen bot. Ges. 1906. Bd. 34.
28. Magnus und Friedenthal: Über die Spezifizität der Verwandtschaftsreaktionen der Pflanzen. Berichte der Deutschen bot. Ges. 1907. Bd. 25.
29. Wedelstadt und Fellmer: Beitrag zur Kenntnis der Immunisierung durch Pflanzeneiweiß. Zeitschr. für Immunitätsforschung. 1910. Bd. 8.

Erklärung zu den Tabellen.

Von den Tabellen ist nur eine Auswahl zum Druck gegeben worden, nämlich Tabelle Nr. II, Tabelle Nr. V, Tabelle Nr. XI und einiges von Tabelle Nr. XIV. Die übrigen Tabellen liegen in der Bibliothek des Botanischen Museums zu Berlin-Dahlem aus und können dort jederzeit eingesehen werden.

Cannabis sativa Cl: bedeutet in den Tabellen der Kapillarmethode ein Antigen von *Cannabis sativa*, das mit physiolog. Kochsalzlösung gewonnen wurde. Die Zahlen in den Minutenreihen geben an, bis zu welcher Verdünnung das Antigen mit Immunserum eine positive Reaktion ergab. 3200 z. B. bedeutet bis zur Verdünnung 1 : 3200.

Cannabis sativa OH: bedeutet ein Antigen von *Cannabis sativa*, das durch Extrahieren des Samens mit 0,1% Natronlauge erzielt wurde und darauf neutralisiert worden ist.

Die unter jedem Antigen stehende Reaktionsreihe N. S. ist der Kontrollversuch des betreffenden Antigens mit Normalkaninchenserum.

Das Zeichen ± bedeutet eine sehr schwache Reaktion.

Schließlich sei noch betont, daß die Zeit nach 30 Minuten als grundlegend angenommen ist und bei der Bewertung in erster Linie berücksichtigt ist.

Liste Nr. II.

Urtica dioïca-Immunserum.
Titer 1 : 12800.

Verdünnungen	1 : 200						1 : 400						1 : 800						1 : 1600						Kontrollen
Zeit (Stunden)	2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12	N.S. = Normalserum
Rhe·m. palm. . .	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	–	–	–	+	++	++	–	–	–	–	–	?	N.S. nach ½ St. opal
Salix scabra . . .	+	+	+	+	++	++	?	?	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	Antig. nach 12 St. opal
Fagus silvatica . .	–	+	+	+	++	++	–	–	+	+	+	+	–	–	–	+	+	+	–	–	–	–	+	+	Antig. nach 8 St. trüb
Corylus Avell. . .	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	–	–	–	+	+	+	–	–	–	–	+	+	Antig. nach 8 St. trüb
Port laca oleracea	–	–	–	?	?	+	–	–	–	?	+	+	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	Antig. nach 10 St. opal
Piper alb.	–	–	?	?	?	+	–	–	–	–	?	+	–	–	–	–	?	+	–	–	–	–	–	–	Antig. nach 12 St. klar
Beta vulg. . . .	–	–	–	+	+	+	–	–	–	+	+	+	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	Antig. nach 12 St. opal
Chenopod. alb. . .	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Antig. nach 12 St. klar
Cannabis sat. . .	–	–	–	+	+	+	–	–	?	?	?	+	–	–	–	?	+	+	–	–	–	–	+	+	Antig. nach 8 St. trüb
Celtis cordif. . . .	.	.	.	.	.	.	–	–	–	+	+	+	–	–	–	+	+	+	–	–	–	+	+	+	Antig. nach 12 St. trüb
Phytolacca dec. . .	+	–	–	?	+	+	–	–	–	?	+	+	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	+	Antig. nach 6 St. trüb
Berberis vulg.. . .	–	–	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	N.S. nach 3 St. opal
Primula off. . . .	–	–	–	?	?	?	–	–	–	–	?	?	–	–	–	–	–	?	–	–	–	–	–	–	N.S. nach 12 St. trüb
Opuntia	.	.	.	.	.	.	–	–	–	–	–	–	?	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Antig. nach 8 St. trüb
Rhamnus cath. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	Antig. nach ½ St. trüb
Amarantus Caud..	.	.	.	.	.	.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Antig. klar
Casuarina str. . .	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	?	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Antig. klar.

– = negativ
? = zweifelhaft
+ = positiv
++ = stark positiv

Wo gar nichts angegeben ist, wie bei *Chenopod.* 1 : 200 und 1 : 400 mußte diese Verdünnung fehlen.

Liste Nr. XIV.

Prunus Amygdalus-Antigen.

Reagiert mit	nach Minuten				
	0	10	20	30	60
Juglans-Immunserum	200	200	400	400	400
Fagus- „	—	—	1600	3200	3200
Celtis- „	6400	6400	6400	6400	12 800 ±
Beta- „	—	3200	3200	3200	3200
Amarantus- „	400	6400	6400	6400	12 800 ±
Cannabis III- „	3200	3200	3200	6400	12 800
Corylus- „	200	800	6400	6400	12 800 ±
Normalserum	200	200	400	400	400

Linum usitatissimum-Antigen.

Reagiert mit	nach Minuten				
	0	10	20	30	60
Corylus-Immunserum	1600	3200	6400 ±	6400	6400
Cannabis I- „	1600	1600	1600	1600	1600
Amarantus- „	800 ±	3200 ±	6400 ±	6400	12 800 ±
Beta- „	3200 ±	6400 ±	6400	12 800	12 800
Celtis- „	400	800	1600 ±	1600 ±	1600 ±
Juglans- „	3200 ±	6400 ±	6400	12 800	25 600 ±
Normalserum	200	400	400	400	800 ±

Liste Nr. V.

Canabis Immunserum Nr. 3.

Reagiert mit		nach Minuten				
		0	10	20	30	60
Cannabis sativa	OH	1600	3200	3200	6400 ±	6400
	N.S.	800	800	800	800	800
Fagus silvatica	Cl	200	200	200	400	400
	N.S.	100	100	200	200	200
Corylus Avellana	Cl	200	800	1600 ±	1600	1600
	N.S.	200	200	200	400	400

Canabis Immunserum Nr. 3.

Reagiert mit		nach Minuten 0	10	20	30	60
Beta vulgaris	Cl	—	—	—	—	—
	N.S.	—	—	—	—	—
Urtica dioica	Cl	—	—	—	—	—
	N.S.	—	—	—	—	—
Urtica dioica	OH	100 ±	200	200	200	400 ±
	N.S.	—	—	—	—	—
Melandryum noctiflorum	Cl	—	—	400	400	800
	N.S.	—	—	—	—	—
Atriplex nitens	Cl	—	—	—	—	—
	N.S.	—	—	—	—	—
Fagopyrum esculentum	Cl	400	1600 ±	1600	1600	1600
	N.S.	400	400	800	800	800
Foeniculum vulgare	Cl	—	200	200	200	200
	N.S.	—	200	200	200	200
Hedera helix	Cl	—	200	400	800 ±	800 ±
	N.S.	—	200 ±	200	400 ±	400
Ribes grossularia	Cl	—	400	400	800 ±	800
	N.S.	—	400	400	800 ±	800
Prunus Amygdalus	Cl	3200	3200	3200	6400	12 800
	N.S.	200	200	400	400	400
Tropaeolum majus	Cl	1600	1600	1600	1600	3200 ±
	N.S.	200	1600 ±	1600 ±	1600 ±	1600 ±
Celastrus punctata	Cl	800	800	1600 ±	1600 ±	1600
	N.S.	100	200	200	200	800
Aesculus Hippocastanum	Cl	400	800	800	800	1600
	N.S.	100	100	100	100	100
Oxalis valdiviana	Cl	100	200 ±	200	200	200
	N.S.	100	200 ±	200	200	200
Rheum undulatum	Cl	400	400	800 ±	800 ±	800 ±
	N.S.	400	400	800 ±	800 ±	800
Juglans regia	Cl	75	75	150 ±	150	150
	N.S.	75	75	75	150 ±	150 ±
Juglans regia	OH	400 ±	400	400	400	400
	N.S.	100	100	200 ±	200 ±	200 ±
Berberis vulgaris	Cl	1200	1200	1200	1200	2400 ±
	N.S.	1200	1200	1200	1200	1200
Berberis vulgaris	OH	600	600	600	600	600
	N.S.	300 ±	300	300	300	300
Primula officinalis	Cl	1000 ±	1000 ±	1000 ±	1000 ±	1000 +
	N.S.	1000 ±	1000 ±	1000 ±	1000	1000
Primula officinalis	OH	800 ±	800	1600 ±	1600 ±	1600 ±
	N.S.	400	400	400	800 ±	800 +

Canabis Immunserum Nr. 3.

Reagiert mit		nach Minuten 0	10	20	30	60
Aristolochia fimbriata	Cl	400	800 ±	800 ±	800	800
	N.S.	400	800 ±	800 ±	800	800
Mirabilis jalapa	Cl	800	1600	1600	1600	1600
	N.S.	800 ±	800	800	800	800
Hamamelis virginiana	Cl	200	400 ±	800	6400 ±	6400
	N.S.	—	200	200	200	200
Vicia Faba	Cl	200 ±	3200	3200	6400	6400
	N.S.	—	200 ±	200	400	400
Statice sinuata	OH	200 ±	400 ±	400	800	800
	N.S.	—	200 ±	200	200	200

Liste Nr. XI.

Fagus-Immunserum.

Reagiert mit		nach Minuten 0	10	20	30	60
Fagus silvatica	Cl	800	1600 ±	6400 ±	6400 ±	6400
	N.S.	100	100	200	200	200
Corylus Avellana	Cl	800	1600 ±	1600 ±	1600 ±	1600 ±
	N.S.	200	200	200	400	400
Cannabis sativa	Cl	3200	3200	3200	3200	3200
	N.S.	800	800	800	800	800
Amarantus caudatus	OH	—	400	400	400	800 ±
	N.S.	400 ±	400 ±	400	400	400
Opuntia	Cl	200	400 ±	400	400	400
	N.S.	—	—	400 ±	400	400
Celtis cordifolia	OH	400	400	400	400	400
	N.S.	—	—	—	—	—
Piper album	OH	—	400 ±	400 ±	400 ±	400 ±
	N.S.	200	200	200	200	200
Statice sinuata	OH	200 ±	400	800 ±	800 ±	800
	N.S	—	200 ±	200	200	200
Prunus Amygdalus	Cl	—	—	1600	3200	3200
	N.S.	200	200	400	400	400
Linum usitatissimum	Cl	800 ±	800 ±	800 ±	800	800
	N.S.	200	400	400	400	800 ±

Fagus-Immunserum.

Reagiert mit		nach Minuten 0	10	20	30	60
Aquilegia vulgaris	Cl	—	200	400 ±	400 ±	400 ±
	N.S.	—	—	200	200	200
Myrtus communis	Cl	1600	1600	1600	1600	1600
	N.S.	400	400	400	800	800
Pinus cembra	Cl	400 ±	400	800 ±	800 ±	800 ±
	N.S.	200 ±	200	200	400 ±	400 ±
Aristolochia fimbriata	Cl	400 ±	400 ±	800 ±	800 ±	800 ±
	N.S.	400	800 ±	800 ±	800 ±	800
Bignonia	Cl	—	200 ±	200	400 ±	400 ±
	N.S.	—	—	100	100	100
Saccharomyces cerevisiae	Cl	—	—	—	—	—
	N.S.	—	—	—	—	—
Evonymus europaea	Cl	100	400	400	400	400
	N.S.	100	400	400	400	800 ±
Sinapis alba	Cl	800 ±	800 ±	1600 ±	1600 ±	1600 ±
	N.S.	400	800	800	800	800
Lens esculenta	Cl	—	—	400	800 ±	800
	N.S.	—	—	—	—	—
Rheum undulatum	Cl	800 ±	800	1600 ±	1600 ±	1600
	N.S.	400	400	800 ±	800 ±	800
Magnolia Kobus	Cl	100 ±	100	200 ±	400	800
	N.S.	100 ±	100	100	100	200 ±
Anamirta cocculus	Cl	—	—	200 ±	200 ±	200
	N.S.	—	—	200 ±	200	200
Mirabilis jalapa	Cl	800	800	800	1600 ±	1600
	N.S.	800 ±	800	800	800	800
Mirabilis longiflora	Cl	—	—	—	—	—
	N.S.	—	—	—	—	—
Vicia Faba	Cl	400	800	1600	3200	3200
	N.S.	—	200 ±	200	400	400
Ribes grossularia	Cl	200	200	400 ±	800 ±	800 ±
	N.S.	—	400	400	800 ±	800
Fagopyrum esculentum	Cl	800	800	1600	1600	1600
	N.S.	400	400	800	800	800
Primula officinalis	OH	800	800	800	1600 ±	1600 ±
	N.S.	400	400	400	800 ±	800 ±
Berberis vulgaris	OH	600 ±	600 ±	600	600	600
	N.S.	300 ±	300	300	300	300
Grevillea robusta	OH	—	800	800	800	800
	N.S.	—	400 ±	800 ±	800 ±	800 ±

Fagus-Immunserum.

Reagiert mit		nach Minuten				
		0	10	20	30	60
Portulaca oleracea	OH	100	200 ±	200	200	200
	N.S.	100	200 ±	200 ±	200	200
Juglans regia	OH	100	100	100	200 ±	200
	N.S.	100	100	200 ±	200 ±	200 ±
Urtica dioica	OH	—	—	100	200 ±	200 ±
	N.S.	—	—	—	—	—
Rumex salicifolius	OH	100 ±	200 ±	400 ±	400 ±	400 ±
	N.S.	—	100	100	200 ±	200 ±

Lebenslauf.

Am 14. August 1899 bin ich, Burghard Konstantin Helwig, als Sohn des Apothekers Burghard Helwig und seiner Ehefrau Anna, geb. Schulz, in Charlottenburg geboren. Ich bin evangelischer Konfession. Vom Jahre 1906 bis zum Jahre 1917 besuchte ich das Friedrichs-Realgymnasium in Berlin. Im Juli 1917 erhielt ich das Notabiturium und trat kurz darauf in das Heer ein. Bis zum April 1919 war ich Soldat. Vom April 1919 bis zum Sommer 1920 studierte ich Geographie, Geologie, Geschichte und Germanistik in Berlin. Diese Studien unterbrach ich auf dringendes Abraten vom Philologenberuf wegen Überfüllung und trat im Sommer 1920 als Praktikant in die Apotheke meines Vaters ein. Im Jahre 1922 bestand ich mein pharmazeutisches Vorexamen in Schleswig, brachte meine Assistentenzeit wieder in Berlin zu und begann das pharmazeutische Studium im April 1923 an der Friedrich-Wilhelm-Universität zu Berlin. Im April 1925 bestand ich das pharmazeutische Staatsexamen. Seit der Zeit widmete ich mich botanischen Studien. Im Laufe meines Studiums habe ich Vorlesungen und Kurse bei folgenden Herren Professoren und Privatdozenten besucht:

Anselmino, Behrmann, Belowsky, Delbrück, Diels, Drach, Engler, Erdmann, Gilg, Haarmann, Häpke, Herrmann, Joachimoglu, Liebisch, Maier, Metzner, Nernst, Penck, Pilger, Pompeckj, Roethe, Rosenmund, Sabalitschka, Schäfer, Schürhoff, Thoms, Thomas.

Allen diesen Herren, meinen hochverehrten Lehrern, sage ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank.